

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



23 JUN 2005

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Juli 2004 (15.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/058268 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/52,
A23L 1/30

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BIOCRATES LIFE SCIENCES GMBH [AT/AT];
Templstrasse 32/2/17, A-6020 Innsbruck (AT).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/014262

(72) Erfinder; und

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. Dezember 2003 (15.12.2003)

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MUNTAU-HEGER,
Ania [DE/DE]; Kobellstrasse 2, 80336 München (DE).
ROSCHER, Adelbert, A. [AT/DE]; Westerholzstrasse
16, 81245 München (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

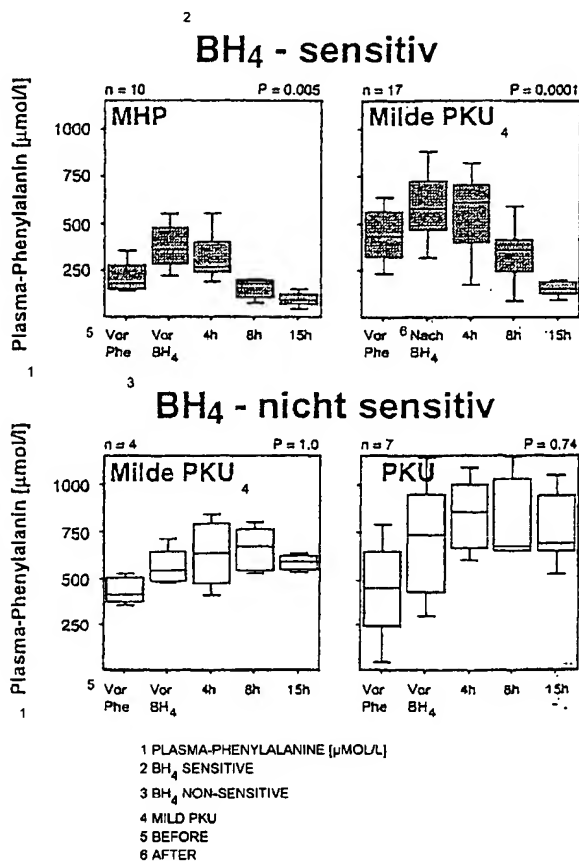
(74) Anwalt: WINTER BRANDL FÜRNISS HÜBNER
RÖSS KAISER POLTE - PARTNERSCHAFT; Patent-
und Rechtsanwaltskanzlei, Alois-Steinecker-Strasse 22,
85354 Freising (DE).

(30) Angaben zur Priorität:
102 60 263.8 20. Dezember 2002 (20.12.2002) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: USE OF VON TETRAHYDROBIOPTERINE DERIVATIVES IN THE TREATMENT AND NUTRITION OF PA-
TIENTS WITH AMINO ACID METABOLIC DISORDERS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON TETRAHYDROBIOPTERINDERIVATEN ZUR BEHANDLUNG UND
ERNÄHRUNG VON PATIENTEN MIT AMINOSÄURESTOFFWECHSELSTÖRUNGEN



(57) Abstract: The invention relates to the use of tetrahydrobiopterine and the derivatives thereof in the production of a medicament to improve protein tolerance for the treatment of diseases arising from an amino acid metabolic disorder, e.g. hyperphenylalaninemia. The invention also relates to a composition which contains tetrahydrobiopterine or derivatives thereof in addition to a special mixture of amino acids. The invention can, for instance, be used as a food which is low in phenylalanine in the complete nutrition of hyperphenylalaninemic patients. Tests carried out within the context of said invention revealed that by treating patients who had phenylalanine concentrations of more than 200 $\mu\text{mol/l}$ in their blood with tetrahydrobiopterine, it was possible to reduce the concentrations of phenylalanine by 37 % to 92 %.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Tetrahydrobiopterin und seinen Derivaten zur Herstellung eines Medikaments zur Verbesserung der Proteintoleranz zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, z.B. der Hyperphenylalaninämie. Die Erfindung betrifft ferner eine Zusammensetzung, welche Tetrahydrobiopterin oder Derivate davon sowie eine spezielle Aminosäuremischung enthält. Diese kann beispielsweise als phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel zur vollständigen Ernährung von hyperphenylalaninämischen Patienten eingesetzt werden. Bei den Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Erfindung hat sich herausgestellt, dass durch Tetrahydrobiopterin-Behandlung von Patienten, die Phenylalaninkonzentrationen über 200 $\mu\text{mol/l}$ im Blut aufwiesen sich deren Phenylalaninkonzentrationen um 37

bis 92 % reduzierten.

BEST AVAILABLE COPY



(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO Patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

10/539842

JC05 Rec'd PCT/PTO 20 JUN 2005

BeschreibungVerwendung von Tetrahydrobiopterinderivaten zur Behandlung und
5 Ernährung von Patienten mit Aminosäurestoffwechselstörungen

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Tetrahydrobiopterinderivaten gemäß Anspruch 1, eine Zusammensetzung
10 gemäß Anspruch 13, eine Verwendung von Tetrahydrobiopterinderivaten als Nahrungsergänzungsmittel gemäß Anspruch 26, eine Spezialnahrung gemäß Anspruch 28, ein phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel gemäß Anspruch 40, sowie ein Diagnostikum zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-sensitiven Erkrankungen, die mit gestörtem Aminosäurestoffwechsel
15 einhergehen gemäß Anspruch 43.

Erkrankungen als Folge von Aminosäurestoffwechselstörungen sind in ihrer Gesamtheit relativ weitverbreitete, Erkrankungen die meist genetisch bedingt sind. Als pathophysiologisches Korrelat finden sich verminderte
20 Aktivitäten bestimmter Enzyme mit der Folge von erhöhten oder erniedrigten Konzentrationen von Aminosäuren und von daraus synthetisierten Neurotransmittern und Botenstoffen sowie gestörter Verträglichkeit (Proteintoleranz) von bestimmten Eiweißkomponenten in der Nahrung.

25 Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung sollen unter dem Begriff "Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels folgende pathophysiologischen Zustände verstanden werden:

30 Zustände mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin, Serotonin oder Dopamin in Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere bei Zuständen mit verringerter Phenylalaninhydroxylase-, Tyrosinhydroxylase- Tryptophanhydroxylase- und NO-Synthaseaktivität. Diese Zustände können – jedoch ohne Einschränkung hierauf – folgende
35 Krankheitsbilder umfassen: Phenylketonurie, insbesondere milde

Phenylketonurie, klassische Phenylketonurie; Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo; sowie Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere orthostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom), muskuläre Dystonie; sowie

5 Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie; Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Dopamin oder Serotonin als Folge von Tyrosinhydroxylase- oder Tryptophanhydroxylasemangel, insbesondere Parkinsonismus, depressive Erkrankungen sowie dystone Bewegungsstörungen, Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität,

10 insbesondere endotheliale Dysfunktion, mangelnde Infektabwehr.

Eine bekannte Aminosäurestoffwechselstörung, welche auf der fehlenden oder verringerten Metabolisierbarkeit des Phenylalanins beruht, ist die Hyperphenylalaninämie, welche durch einen Mangel an

15 Phenylalaninhydroxylase hervorgerufen wird. Mindestens die Hälfte der betroffenen Patienten manifestieren sich mit milden klinischen Phänotypen. Die im Stand der Technik einzig mögliche Behandlung der meisten Aminosäurestoffwechselerkrankungen, wie beispielsweise der Hyperphenylalaninämie, liegt darin, die Patienten mit einer Diät zu ernähren,

20 die Produkte verwendet, die die durch die spezielle Stoffwechselstörung betroffene Aminosäure nicht enthält bzw. nur in sehr geringen Mengen enthält.

Die Hyperphenylalaninämie war eine der ersten genetischen

25 Störungen, die behandelt werden konnten. In den meisten Fällen wird Hyperphenylalaninämie von einem Phenylalaninhydroxylasemangel verursacht, hervorgerufen durch Mutationen auf dem Phenylalaninhydroxylasegen. Die damit verbundenen Phänotypen reichen in ihrem Schweregrad von der klassischen Phenylketonurie (Online Mendelsche Vererbungslehre beim Menschen Nr. 261600) (Online Mendelian Inheritance in Man number 261600) bis hin zur milden Phenylketonurie und milden Hyperphenylalaninämie. Mindestens die Hälfte der betroffenen Patienten leidet an einem der mildereren klinischen Phänotypen. Sowohl Patienten, die an einer klassischen Phenylketonurie

30

leiden, als auch Patienten, die an einer milden Phenylketonurie leiden, müssen ihr Leben lang auf eine proteinarme Ernährung achten, um neurologischen Folgeerscheinungen vorzubeugen und eine normale kognitive Entwicklung sicherzustellen, wohingegen Patienten mit einer leichten Hyperphenylalaninämie unter Umständen keine Behandlung benötigen. Im Zusammenhang mit der sehr strengen Diät steht das Risiko ernährungsbedingter Mangelerscheinungen und sie stellt eine starke Belastung für die Patienten und deren Familien dar.

10 Eine kausal wirkende Therapie existiert bislang im Stand der Technik nicht, so dass es für die betroffenen Patienten keine andere Möglichkeit gibt, als strenge Diät einzuhalten, wenn sie nicht riskieren wollen, erhebliche Folgeerscheinungen der Aminosäurestoffwechselstörung und der beispielsweise damit verbundenen Hyperphenylalaninämie, zu erleiden. Die 15 neurologischen Folgeerscheinungen umfassen beispielsweise irreversible Schädigungen des Nervensystems und des Gehirns, mentale Retardierung bis hin zum völligen Schwachsinn. Darüber hinaus sind Nierenschäden, Leberschäden und Schädigungen der Sinnesorgane beschrieben.

20 Für die betroffenen Patienten heißt das - am Beispiel der Hyperphenylalaninämie - dass man diese mit einer phenylalaninarmen Kost versorgen muß. Da Phenylalanin ein wichtiger Proteinbaustein, insbesondere in der tierischen Welt ist, ist es naturgemäß schwierig, Patienten mit Aminosäurestoffwechselstörungen - ohne Provokation von 25 unerwünschter und toxischer Phenylalaninerhöhung zu ernähren. Darüber hinaus können ernährungsbedingte Mangelerscheinungen auftreten.

Im Stand der Technik wurden hierzu früher Eiweißhydrolysate verwendet, welche aus phenylalaninarmen Proteinen durch saure oder 30 alkalische Hydrolyse hergestellt wurden.

Derartige Produkte hatten einen mehr als üblen Geschmack und waren häufig für die Patienten auf lange Sicht untragbar. Neben diesen Hydrolysaten kamen nur nach entsprechendem diätetischem Konzept streng 35 ausgewählte Speisen, meist vegetarischer Natur, als Ernährung für die betroffenen Patienten in Frage.

Demgegenüber sind die synthetischen Aminosäurenmischungen welche diejenige Aminosäure, die von der Stoffwechselstörung betroffen ist, nicht enthält, bereits eine starke Verbesserung gegenüber den althergebrachten Hydrolysaten.

Phenylalaninfreie Produkte auf dieser Basis sind beispielsweise aus der US 5,393,532 bekannt und werden seither als Spezialnahrung für Hyperphenylalaninämie- und Phenylketonuriepatienten verwendet.

Desweiteren ist es aus der WO 98/08402 A1 bekannt, Spezialnahrungsmittel auf Basis von Casein-Glyko-Makropeptiden in Verbindung mit Aminosäuremischungen herzustellen, um Patienten im Bedarfsfalle z.B. phenylalaninfrei ernähren zu können.

Geschmacklich stehen derartige Aminosäuremischungen jedoch weit unterhalb des Niveaus der gewöhnlichen Nahrungsmittel.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass ein strenger, lebenslang einzuhaltender Diätplan, der auf eine spezielle Aminosäurestoffwechselstörung zugeschnitten ist, eine starke psychosoziale Belastung darstellt und andere Behandlungsmethoden bisher nicht erfolgreich waren.

Ausgehend von diesem Stand der Technik ist es daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Stoffe zur Verfügung zu stellen, welche einerseits im Rahmen einer therapeutischen Behandlung von Aminosäurestoffwechselstörungen eingesetzt werden können und andererseits zur Herstellung von Nahrungs-Mitteln, insbesondere diätetische Spezialnahrung für von Aminosäurestoffwechselstörungen betroffenen Patienten verwendet werden können.

Die obige Aufgabe wird durch eine Verwendung von Tetrahydrobiopterinderivaten gemäß Anspruch 1, eine Zusammensetzung gemäß Anspruch 13, eine Verwendung von Tetrahydrobiopterinderivaten als Nahrungsergänzungsmittel gemäß Anspruch 26, eine Spezialnahrung

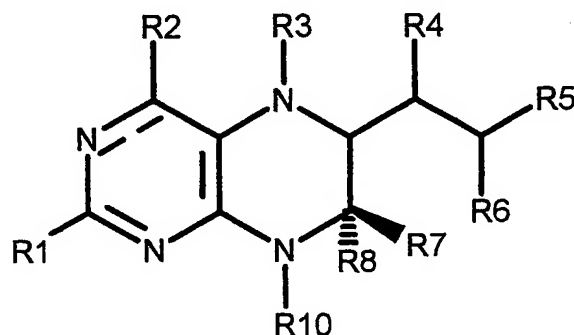
gemäß Anspruch 28 sowie ein phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel gemäß Anspruch 40 gelöst.

Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein
5 Diagnostikum für solche Aminosäurestoffwechselstörungen zur Verfügung zu stellen, die durch Tetrahydrobiopterinderivate günstig beeinflusst werden können.

Diese Aufgabe wird durch ein Diagnostikum gemäß Anspruch 43
10 gelöst.

Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:

15



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂, NH-Acyl, wobei der Acylrest 1
20 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

25 worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein

C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

5 worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

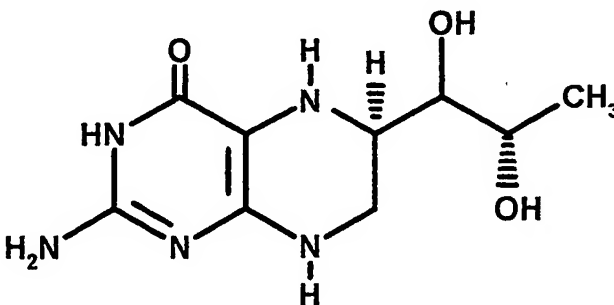
10

deren pharmazeutisch akzeptablen Salze;

zur Herstellung eines Medikamentes zur Verbesserung der Proteintoleranz zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten
15 Aminosäurestoffwechsels.

Im Folgenden sind bevorzugte Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Verwendung beschrieben:

20 Besonders für die erfindungsgemäße Verwendung geeignet ist eine Verbindung, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid oder Sulfat, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



25

(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid; und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Als Salze kommen insbesondere Hydrochloride oder Sulfate zum Einsatz.

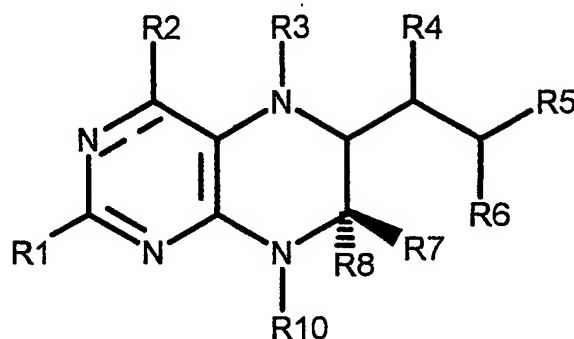
Die oben genannten Verbindungen kommen insbesondere als
Medikament zur Behandlung folgender Erkrankungen bzw.
Aminosäurestoffwechselstörungen in Frage:

Zustände mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin in
Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere Zustände mit
verringertem Phenylalaninhydroxylaseaktivität; Phenylketonurie,
insbesondere milde Phenylketonurie, klassische Phenylketonurie;
Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo; Zustände bedingt durch
verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere
orthostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom), muskuläre Dystonie;
sowie Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie.

Vorzugsweise wird als pharmazeutisch akzeptables Salz ein
Hydrochlorid, insbesondere ein Dihydrochlorid, verwendet.

Darüber hinaus kommt der vorliegenden Erfindung Bedeutung zu,
indem man wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeinen Formel

als Chaperon, insbesondere chemisches Chaperon, oder sogenanntes Protein-Faltungshilfsmittel einsetzt:



5

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

10

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

15

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

20

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

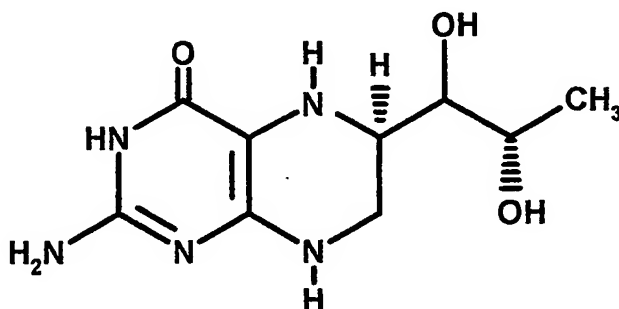
worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

25

deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.

Auch bei Verwendung als Chaperon ist es bevorzugt, dass die
5 Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



10

(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

15 2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

20 Die genannten Verbindungen haben sich als hervorragend geeignet zur
Abminderung von Proteinmißfaltung und dadurch zur Verbesserung von
Enzymaktivität, insbesondere bei Strukturanomalien in Enzymen, die
Tetrahydrobiopterin als Cofaktor benötigen, beispielsweise bei Defekten der
Phenylalaninhydroxylase, herausgestellt. Durch diesen Wirkmechanismus
25 sind sie bevorzugt geeignet zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur
Behandlung von Krankheitsbildern geeignet sind welche auf

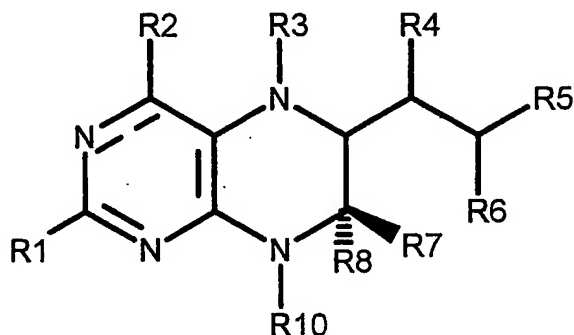
Strukturanomalien der folgenden Enzyme zurückzuführen sind: Phenylalaninhydroxylase, Tyrosinhydroxylase, Tryptophanhydroxylase, oder NO-Synthase.

- 5 . Somit eignen sich die erfindungsgemäßen Chaperone zur Therapie von Zuständen

mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin, Serotonin oder Dopamin in Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere bei
10 Zuständen mit verringerter Phenylalaninhydroxylase-, Tyrosinhydroxylase- Tryptophanhydroxylase- und NO-Synthaseaktivität verwendet wird.

Dieser Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung
15 wenigstens einer Verbindung gemäß folgender allgemeiner Formel als Neurotransmitter-oder Botenstoff-Enhancer, insbesondere für Catecholamine und/oder Serotonin und/oder Dopamin und/oder Stickoxid (NO):

20



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1

bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH_3O , bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R_2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, O, S;

5 worin R_3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH_3 , C_2H_5 ;

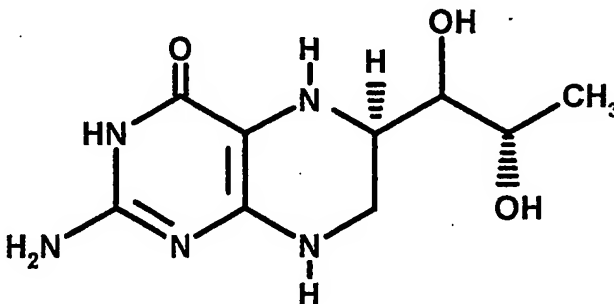
worin R_4 und R_6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R_5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R_7 und R_8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, CH_3 , COOH, CHO, COOR9, wobei R_9 CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , Butyl ist;

worin R_{10} ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH_3 , C_2H_5 , und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.

20 Auch als Neurotransmitter-oder Botenstoff-Enhancer wird bevorzugt eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:

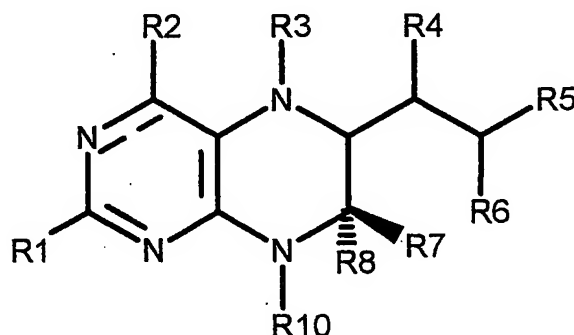


(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

- 5 2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

- 10 Die vorliegende Erfindung betrifft ferner eine Zusammensetzung, die wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel enthält:



15

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

20

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

- 25 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein

C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

5 worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

10

deren pharmazeutisch akzeptablen Salze; sowie

wenigstens eine Aminosäure enthaltend, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus den essentiellen Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, 15 Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin; sowie aus den nicht essentiellen Aminosäuren, insbesondere Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin.

20 Eine bevorzugte Zusammensetzung ist dadurch gekennzeichnet, dass sie die essentiellen Aminosäuren, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin und zusätzlich wenigstens eine der Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, 25 Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin enthält.

Es ist ferner bevorzugt, dass die erfindungsgemäße Zusammensetzung zusätzlich Kohlehydrate, insbesondere Glucose, und/oder Vitamine enthält.

Vorzugsweise kann die erfindungsgemäße Zusammensetzung als oral oder intravenös zu verabreichendes Präparat formuliert sein.

Das Präparat kann als Pulver, Tablette, Kapsel, Dragee, in
5 Tropfenform oder für topische Anwendungen, insbesondere Salben; sowie als Lösung zur intravenösen Anwendung, formuliert sein.

Selbstverständlich können derartige Zubereitungen als
pharmazeutische Zusammensetzung, gegebenenfalls mit pharmazeutisch-
10 galenisch üblichen Hilfsstoffen, ausgebildet sein.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung kann jedoch ebenfalls als
diätetische Zusammensetzung, gegebenenfalls mit lebensmitteltechnisch
üblichen Hilfsstoffen, insbesondere Emulgatoren, bevorzugt Lecitin oder
15 Cholin, ausgebildet sein.

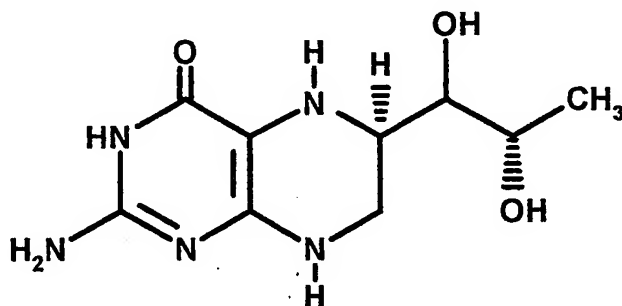
Darüber hinaus ist es bevorzugt, dass die erfindungsgemäße
Zusammensetzung noch zusätzlich Mineralstoffe und/oder Elektrolyte
enthält, welche ausgewählt sind aus: Mineralsalzen; Salinensalzen;
20 Meersalzen; Spurenelementen, insbesondere Selen, Mangan, Kupfer, Zink,
Molybdän, Jod, Chrom; Alkaliionen, insbesondere Lithium, Natrium, Kalium;
Erdalkaliionen, insbesondere Magnesium, Calcium; Eisen.

Im Rahmen eines diätetischen Nahrungsmittels für Patienten mit
25 Hyperphenylalaninämie kann die erfindungsgemäße Zusammensetzung
sogar zusätzlich Phenylalanin enthalten, ohne dass die Gefahr einer
toxischen Akkumulation von Phenylalanin im Serum,
Cerebrospinalflüssigkeit und/oder dem Gehirn auftritt.

Es ist ferner bevorzugt, dass die Zusammensetzung zusätzlich noch L-Carnitin und/oder Myoinosit und/oder Cholin enthält.

Darüberhinaus kann es nützlich sein, dass die erfindungsgemäße Zusammensetzung noch die in der Lebensmitteltechnik üblichen Antioxidantien, insbesondere Vitamin C, enthält, wodurch die oxidative Zersetzung der Tetrahydrobiopterinderivate wenigstens weitgehend vermieden werden können und die Lagerstabilität der Zusammensetzung verbessert wird.

Bevorzugt wird eine Zusammensetzung mit einer Verbindung verwendet, wobei die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



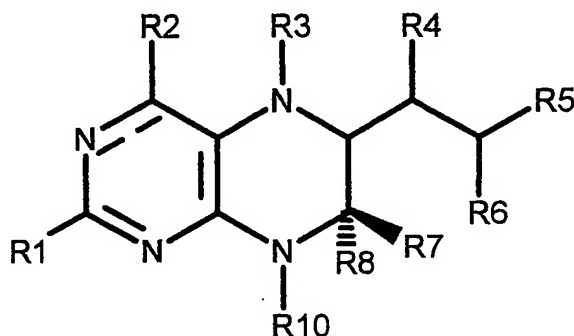
(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder 2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Der vorliegenden Erfindung kommt eine besondere Bedeutung bei der Herstellung von Nahrungsergänzungsmitteln zu, welche sich eignen, um von Aminosäurestoffwechselstörungen betroffenen Patienten eine weitgehend normale Ernährung trotz ihrer Erkrankung zu ermöglichen.

5

Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung eine Verwendung wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



10

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

15

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

20

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

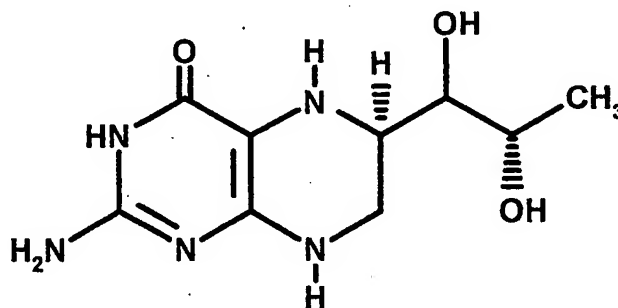
25

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie deren geeignete Salze;

als Nahrungsergänzungsmittel.

Als Nahrungsergänzungsmittel für die angesprochene Patientengruppe eignet sich insbesondere eine solche Verbindung besonders, die ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



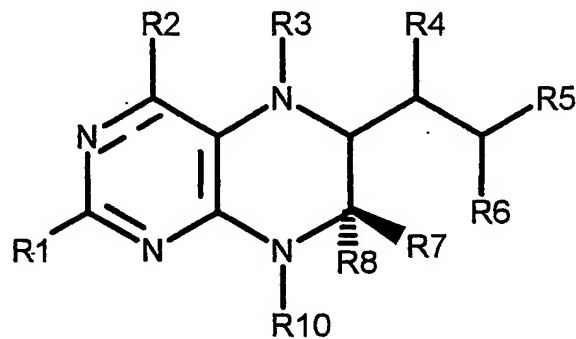
(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder 2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder 2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Eine herausragende Bedeutung kommt der vorliegenden Erfindung bei der Herstellung einer Spezialnahrung auf Basis von im Wesentlichen phenylalaninfreien Aminosäuremischungen zu, mit der insbesondere Patienten mit Hyperphenylalaninämie optimal ernährt werden können.

5

Derartige Spezialnahrung enthält wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



10

15 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

20 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

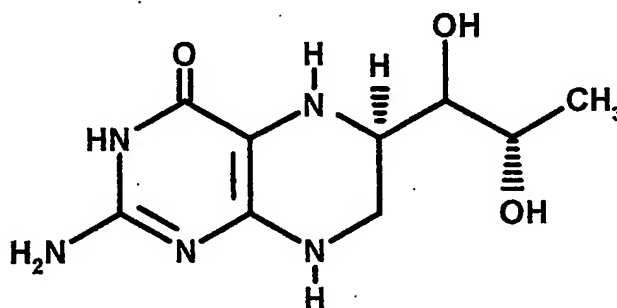
25 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃,
C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃,
5 C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

deren lebensmitteltechnisch akzeptablen Salze.

Als Spezialnahrung für Hyperphenylalaninämie-Patienten eignet sich
10 besonders eine solche, welche wenigstens eine Verbindung enthält, die ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



15

(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

20

insbesondere deren Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder
2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

25

Zur Sicherung des vollständigen Nahrungsangebotes ist es bevorzugt, dass die erfindungsgemäße Spezialnahrung zusätzlich Kohlenhydrate, insbesondere Glucose, Maltodextrin, Stärke und/oder Fette, wie Fischöl, insbesondere Lachsöl, Heringsöl, Makrelenöl, oder Thunfischöl; enthält.

5

Es ist besonders bevorzugt, dass die Spezialnahrung hypoallergen und/oder im wesentlichen glutenfrei ist.

Da die meisten Aminosäurestoffwechselstörungen genetisch bedingte Erbkrankheiten sind, ist es erforderlich, die Patienten von Geburt an mit der richtigen Nahrung zu versorgen. Daher ist es ein besonderer Vorteil, dass die Spezialnahrung der vorliegenden Erfindung als Säuglingsnahrung, insbesondere als Milchersatzmittel sowohl für Säuglinge als auch ältere Kinder und Erwachsene, formuliert werden kann.

15

Ein derartiges Milchersatzmittel für Säuglinge weist zusätzlich einen Fettanteil auf, wobei insbesondere in etwa 90% als Triglyzeride, 10% als Mono- und Diglyzeride vorliegen.

20

Zur leichteren Konfektionierung und zur Erhöhung der Lagerstabilität wird die Spezialnahrung als Pulver, insbesondere als Lyophilisat, zur Verfügung gestellt.

25

Desweiteren ist es bevorzugt, die erfindungsgemäße Spezialnahrung zusätzlich mit Fettsäuresupplementen zu versehen, insbesondere ungesättigte Fettsäuren, vorzugsweise Omega-3-Fettsäuren, insbesondere Alphanolensäure, Docosahexaensäure, Eicosapentaensäure, oder Omega-6 Fettsäuren, insbesondere Arachidonsäure, Linolsäure, Linolensäure; oder Ölsäure.

30

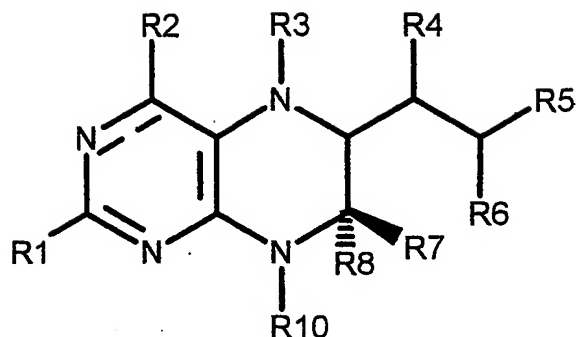
Es ist ferner bevorzugt, dass die Spezialnahrung Fischölzusätze enthält, insbesondere aus Lachs-, Hering-, Makrelen- oder Thunfischöl.

5 Darüber hinaus kann die Spezialnahrung einen Fettanteil aufweisen, der pflanzliche Öle, insbesondere Distelöl und/oder Sojaöl und/oder Kokosöl umfasst.

10 Eine besonders bevorzugte Ausführungsform der Spezialnahrung der vorliegenden Erfindung ist es diese aufgrund ihres Charakters als Milchersatzmittel auch als speziell für Patienten mit einer Aminosäurestoffwechselstörung, insbesondere Hyperphenylalaninämie, geeignetes Milchmixgetränk, insbesondere Fruchtmilchmixgetränk oder Kakao auszubilden.

15 Bei der Ernährung von Patienten mit Hyperphenylalaninämie kommt der vorliegenden Erfindung eine herausragende Bedeutung zu: Durch den Verdienst der Erfinder der vorliegenden Erfindung ist es erstmals möglich, solchen Patienten ein phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel zur Verfügung zu stellen, das durch den Zusatz von Tetrahydrobiopterin –
20 Derivaten geeignet ist die Proteintoleranz und den Abbau von Phenylalanin zu erhöhen.

Gemäß der vorliegenden Erfindung enthält ein solches phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel ein proteinarmes
25 Grundnahrungsmittel sowie wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH;
 5 F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1
 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32,
 vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH,
 NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

10 worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃,
 C₂H₅;

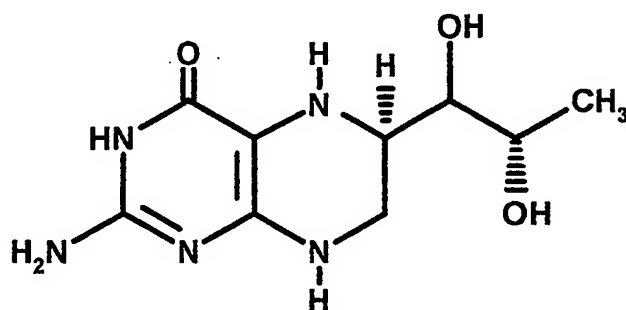
worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der
 Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein
 C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein
 15 C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃,
 C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der
 Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO,
 20 COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃,
 C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie
 deren lebensmitteltechnisch akzeptablen Salze.

Für das erfindungsgemäße phenylalaninarme Spezialnahrungsmittel ist es ebenfalls bevorzugt, eine Verbindung einzusetzen, welche ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit
5 folgender Struktur:



10 (-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere deren Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

15 2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

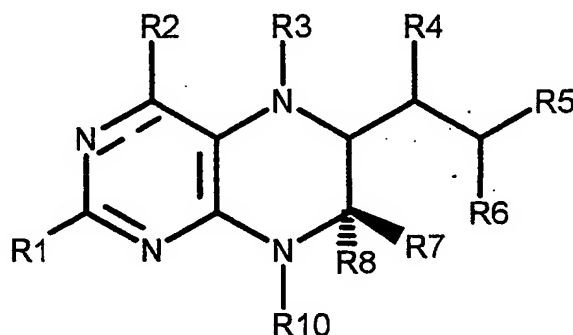
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Es ist möglich und bevorzugt, das phenylalaninarme Spezialnahrungsmittel auszubilden als: Fertiggerichte; Teigwaren,
20 insbesondere Nudeln; Backwaren, insbesondere Brot, Kuchen, Kekse; Süßwaren, insbesondere Schokolade, Bonbons, Eis; Getränke, insbesondere Milchersatzmittel, ausgebildet als Milchmixgetränk, insbesondere als Fruchtmilchmixgetränk oder Kakao; sowie Bier.

25

Hiermit können Hyperphenylalaninämie-Patienten erstmals
signifikant höhere Mengen an normaler Kost zu sich nehmen – ohne
sich aufgrund ihrer Aminosäurestoffwechselstörung in Gefahr zu
begeben – und ohne ausschließlich auf die übel schmeckenden
5 Produkte des Stands der Technik angewiesen zu sein.

Infolge des raschen Eintritts der Wirkung von Tetrahydrobiopterinderivaten
ist es im Rahmen der vorliegenden Erfindung schlussendlich möglich, ein
Diagnostikum zur Erkennung von Tetrahydrobiopterin-sensitiven
10 Erkrankungen des Aminosäurestoffwechsels, zur Verfügung zu stellen,
welches wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel
enthält:



15

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH,
F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1
bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32,
20 vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH,
NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃,
C₂H₅;

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

- 5 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

- 10 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt;

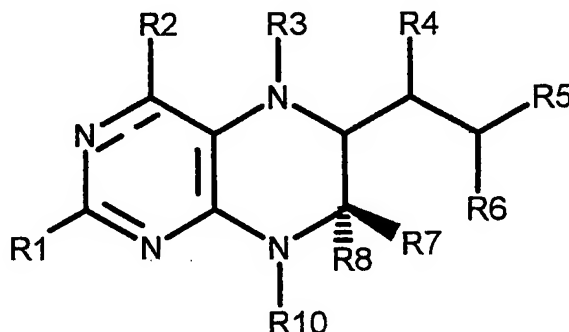
insbesondere 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin; sowie deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.

- 15 Zusammenfassend ist festzustellen, dass es mit den im Rahmen der vorliegenden Erfindung beschriebenen Verbindungen erstmals möglich ist, bestimmte genetisch bedingte Aminosäurestoffwechselstörungen medikamentös zu behandeln, so dass die Patienten eine Verbesserung der Proteintoleranz sowie eine weitgehende Normalisierung ihrer gestörten
- 20 Enzymaktivität sowie der Konzentrationen der betroffenen Aminosäuren und/oder deren Stoffwechselprodukte in Körperflüssigkeiten und Körperzellen aufweisen.

- Desweiteren schlägt die vorliegende Erfindung Zusammensetzungen
- 25 von Nahrungsergänzungsmitteln und Spezialnahrungen vor, die gleichzeitig die in der Erfindung beschriebenen Verbindungen zur Verbesserung der Proteintoleranz und des Abbaus von Phenylalanin enthalten. Dadurch ist es erstmals möglich ist, Patienten mit Aminosäurestoffwechselstörungen praktisch normal, d.h. mit quasi allen geschmacklichen und
- 30 kompositorischen Nuancen, zu ernähren.

Neben den oben bereits mehrfach erwähnten Verbindungen können jedoch auch folgende Verbindungen als bevorzugte Ausführungsformen für sämtliche Anspruchskategorien zum Einsatz gelangen:

- 5 Sämtliche Einzelverbindungen sowie deren unterschiedliche Enantiomere, die sich mit den jeweils offenbarten Substituenten R1 bis R10 und X aus den dargestellten allgemeinen Formeln ergeben sowie sämtliche Unterkombinationen davon.
- 10 Insbesondere sollen folgende Unterkombinationen von Verbindungen Bestandteil der Offenbarung sein:



15

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH; und/oder

20 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: F, Cl, Br, I; und/oder

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; und/oder

25 worin R1 NH-Acyl ist, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält; und/oder

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH;
und/oder

5 worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: NH₂, F, Cl,
Br, I, O, S; und/oder

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃,
C₂H₅; und/oder

10

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der
Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂; und/oder

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der
15 Gruppe bestehend aus: F, Cl, Br, I; und/oder

worin R4 und R6 unabhängig voneinander Acetyl ist; und/oder

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der
20 Gruppe bestehend aus: OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere
ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist; und/oder

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: CH₃, C₂H₅,
C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl; und/oder

25

worin R5 Phenyl ist; und/oder

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der
Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO;
30 und/oder

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: COOR9, wobei R9 CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist; und/oder

- 5 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt.

Es hat sich ferner herausgestellt, dass sich lipophile Tetrahydrobiopterinderivate, wie sie beispielsweise in der EP 0 164 964 A1
10 beschrieben sind, besonders eignen, um einerseits die Serumhalbwertszeit im Vergleich zu Tetrahydrobiopterin von ca. 8 Stunden auf über 18 Stunden zu erhöhen. Andererseits sind derartige lipophile Tetrahydrobiopterinderivate besonders geeignet, um Spezialnahrungen und Nahrungsmittelergänzungen herzustellen, da sie sich auch in fetthaltigen
15 Gemischen, beispielsweise in Milchersatzmitteln, gut lösen.

Desweiteren liegt ein Vorteil der lipophilen Verbindungen in ihrer verminderten Oxidationsempfindlichkeit.

- 20 Derartige lipophile Verbindungen sind insbesondere solche, bei welchen

R1 in obiger allgemeiner Formel ein NH-Acyl ist, wobei der Acylrest insbesondere 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;
25 und/oder

R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: OX, wobei X insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist; wobei die Substituenten R2, R3, R5,

R7, R8, R9, R10 wie im Rahmen der vorliegenden Erfindung offenbart ausgewählt sein können.

Vorzugsweise können folgende lipophile Tetrahydrobiopterinderivate
5 für die Zwecke der vorliegenden Erfindung beispielhaft eingesetzt werden:

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
10 2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Tetrahydrobiopterin ist derzeit kommerziell erhältlich, so beispielsweise
als Sapropterinhydrochlorid welches unter dem Namen BIOPTEN® von der
Firma Suntory erhältlich ist und welches zur Therapie von genetisch
15 bedingten Tetrahydrobiopterin-Synthesestörungen eingesetzt wird.

Darüber hinaus kann Tetrahydrobiopterin und seine Derivate
synthetisch hergestellt werden. Beipielhaft ist hierzu die EP 0 164 964 A1
genannt, welche u.a. die Herstellung einer Reihe von acylierten
20 Tetrahydrobiopterinderivaten beschreibt. Desweiteren offenbart die US
4,665,182 die organisch chemische Synthese von Biopterinderivaten.

Somit bereitet die Herstellung der verwendeten Verbindungen dem
Fachmann keine Schwierigkeiten.

25

Weitere Vorteile und Merkmale ergeben sich aufgrund der
Beschreibung von Ausführungsbeispielen sowie anhand der Zeichnung.

Es zeigt:

30

Fig. 1 die Phenylalaninkonzentrationen im Blut vor Provokation mit
Phenylalanin sowie vor und nach Gabe von Tetrahydrobiopterin bei der
milden Hyperphenylalaninämie, der milden Phenylketonurie, der milden,

nicht auf Tetrahydrobiopterin ansprechenden Phenylketonurie sowie der klassischen Phenylketonurie;

Fig. 2 die Wirkungen von Kurzzeitbehandlungen mit
5 Tetrahydrobiopterin auf die Phenylalaninoxidation;

Fig. 3 eine Relation zwischen der kumulativen Wiederfindungsrate von ^{13}C -markiertem CO_2 während nach Gabe von ^{13}C -markiertem Phenylalanin und den Phenylalanin-Blutkonzentrationen vor und nach Verabreichung von
10 Tetrahydrobiopterin;

Fig. 4 die Wirkung von Tetrahydrobiopterin auf die periphere Phenylalanin-Clearance und Oxidationsraten bei Patienten mit Hyperphenylalaninämie; und
15

Fig. 5 die strukturelle Lokalisation von Phenylalaninhydroxylase Missense-Mutationen.

Tabelle 1 die Korrelation der Genotypen zu klinischen Phänotypen.
20

Beispiele

Verfahrensweise

Um die therapeutische Wirksamkeit von Tetrahydrobiopterin zu
25 untersuchen, führten wir einen kombinierten Phenylalanin-Tetrahydrobiopterin Belastungstest zur Diagnostik durch und analysierten die Wirkung *in vivo* mittels Bestimmung der [^{13}C]Phenylalanin-Oxidations-Raten bei 38 Personen mit einem Mangel an Phenylalanin-Hydroxylase vor und nach Gabe von Tetrahydrobiopterinderivaten. Das Ansprechen auf
30 Tetrahydrobiopterin stand mit bestimmten Genotypen im Zusammenhang und wir lokalisierten Mutationen anhand des Strukturmodelles des Phenylalanin-Hydroxylase-Monomers und daraus abzuleitende Proteinfehlfaltung.

Ergebnisse

Bei 27 der 31 Patienten (87 Prozent) mit einer milden Hyperphenylalaninämie (n=10) oder einer milden Phenylketonurie (n=21) senkte Tetrahydrobiopterin deutlich den Phenylalanin Gehalt im Blut und erhöhte/verbesserte die Phenylalanin-Oxidation. Umgekehrt erfüllte keiner der sieben Patienten mit klassischer Phenylketonurie (n=7) das Kriterium des starken Ansprechens auf Tetrahydrobiopterin, wie es in der Studie definiert wurde. Bei einzelnen Patienten mit klassischer Phenylketonurie waren jedoch geringe Effekte nachweisbar. Eine Langzeittherapie mit Tetrahydrobiopterin, die bei fünf Kindern durchgeführt wurde, erhöhte die tägliche Phenylalanintoleranz signifikant von $8,7 \pm 8,6$ mg/kg Körpergewicht (Spanne 8,8-30) auf $61,4 \pm 27,9$ mg/kg Körpergewicht (Spanne 17,9-90) unter medikamentöser Behandlung ($P=0,0043$) und ermöglichte ihnen damit, ihre Spezialdiät abubrechen. Sieben Mutationen des Phenylalaninhydroxylasegens (P314S, Y417H, V177M, V245A, A300S, E290G und IVS4-5C→G) und daraus resultierende Strukturanomalie und Fehlfaltung des Enzyms wurden als höchstwahrscheinlich ursächlich in Zusammenhang stehend mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin klassifiziert und sechs Mutationen (A403V, F39L, D415N, S310Y, R158Q und I65T) wurden als möglicherweise in Zusammenhang stehend klassifiziert. Vier Mutationen (Y414C, L48S, R261Q und 165V) standen uneinheitlich mit diesem Phänotyp in Zusammenhang. Mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin verbundene Mutationen waren vor allem im katalytischen Bereich des Proteins lokalisiert und waren nicht direkt an der Cofaktorbindung beteiligt.

Schlußfolgerungen:

Ein Ansprechen auf Tetrahydrobiopterinderivate - charakterisiert durch Verbesserung der Proteintoleranz, weitgehender Normalisierung gestörter Phenylalaninhydroxylaseaktivität sowie Absenkung erhöhter

Phenylalaninkonzentration - tritt häufig bei Patienten mit einem milden Phänotyp einer Hyperphenylalaninämie auf. Das Ansprechen kann nicht zuverlässig anhand des Genotyps vorhergesagt werden, was vor allem bei zusammengesetzten doppelt heterozygoten Genotypen zutrifft. Die medikamentöse Behandlung mit Tetrahydrobiopterinderivaten und/oder Zusatz der Verbindungen zu Nahrungsmitteln könnte viele Patienten von ihrer sehr belastenden phenylalaninarmen Diät befreien und dadurch ihre Ernährung erleichtern.

10 Nach Einreichung der vorliegenden Patentanmeldung werden die Daten der Erfindung in wissenschaftlich begutachteter Form publiziert und dokumentiert: New England Journal of Medicine, 2002, 347 (26), 2122-2132 (26.12.02).

15

Einleitung

Hyperphenylalaninämie, eine weitverbreitete vererbare Stoffwechselkrankheit, war eine der ersten genetischen Störungen, die behandelt werden konnten. In den meisten Fällen resultiert Hyperphenylalaninämie aus einem Mangel an Phenylalanin-Hydroxylase (EC1.14.16.1), hervorgerufen durch Mutationen auf dem Phenylalanin-Hydroxylase-Gen. Die damit verbundenen Phänotypen reichen in ihrem Schweregrad von der klassischen Phenylketonurie (MIM261600) bis hin zur milden Phenylketonurie und milden Hyperphenylalaninämie. Mindestens die Hälfte der betroffenen Patienten leidet an einer der mildereren klinischen Phänotypen. Sowohl Patienten, die an einer klassischen Phenylketonurie leiden, als auch Patienten, die an einer milden Phenylketonurie leiden, müssen ihr Leben lang auf eine proteinarme Ernährung achten, um neurologischen Folgeerscheinungen vorzubeugen und eine normale kognitive Entwicklung sicherzustellen. Im Zusammenhang mit der sehr

strengen Spezialdiät steht das Risiko ernährungsbedingter Mangelerscheinungen, zudem stellt sie eine Belastung für die Patienten und deren Familien dar. Nur Patienten die an einer milden Hyperphenylalaninämie leiden, benötigen unter Umständen keine Behandlung. Die Suche nach
5 alternativen Behandlungsmethoden ohne Ernährungsumstellung wurde angeregt.

Bei ca. 50 genetisch bedingten Krankheiten beim Menschen kann die Behandlung durch eine hohe Dosis eines Cofaktors die Enzymtätigkeit anregen. Tetrahydrobiopterin ist ein natürlicher Kofaktor von aromatischen
10 Aminosäurehydroxylasen und der Stickoxidsynthase. Die Substitution dieser Cofactor-Komponente ist eine etablierte Behandlungsmethode bei seltenen Fällen von Hyperphenylalaninämie, die von angeborenen Fehlern bei der Tetrahydrobiopterin-Biosynthese herrührt. Mehr als 98 Prozent der Patienten mit Hyperphenylalaninämie weisen jedoch Mutationen auf dem
15 Phenylalanin-Hydroxylase-Gen auf und sie haben eher eine erhöhte als eine verringerte Plasmakonzentration an Biopterin, was auf die Aktivität des Guanosintriphosphatcyclohydroxylase I-Rückkopplungsregulationsproteins zurückzuführen ist. Eine mögliche therapeutische Wirkung des Tetrahydrobiopterins bei Patienten mit einem Mangel an Phenylalanin-
20 Hydroxylase wurde aus diesem Grund bisher nicht bedacht.

In jüngster Zeit wurde nachgewiesen, daß einzelne Patienten mit Mutationen auf dem Phenylalanin-Hydroxylase-Gen niedrigere Phenylalanin-Konzentrationen im Blut aufwiesen, nachdem ihnen zu diagnostischen
25 Zwecken Tetrahydrobiopterin verabreicht worden war. Es ist jedoch bekannt, daß periphere Phenylalaninwerte von verschiedenen genetischen Orten und verändernden Faktoren reguliert werden und es gibt keine Beweise, daß die positive Wirkung von Tetrahydrobiopterin auf der Ebene der Phenylalanin-Hydroxylierung erfolgt.

In dieser Studie, die mit nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Patienten durchgeführt wurde, wurden die folgenden Fragen behandelt: (1) Wie weit ist das Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin verbreitet? (2) Stellt Tetrahydrobiopterin die Phenylalaninoxidationsfähigkeit wieder her? (3) 5 Hängt das Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin mit bestimmten Genotypen zusammen und befinden sich damit im Zusammenhang stehende Mutationen an bestimmten Orten der Proteinstruktur? (4) Verbessert es die Proteintoleranz bei Langzeitbehandlung?

10

Verfahren

Patienten

Wir erhielten eine schriftliche Zustimmungserklärung der Familien von 38 Kindern, die an verschiedenen Unterformen der Hyperphenylalaninämie 15 leiden. Die Klassifikation erfolgte in Abhängigkeit der Plasmaphenylalanin-Konzentration vor der Behandlung: $<600\mu\text{mol/l}$, milde Hyperphenylalaninämie, $n=10$, Alter 15 Tage bis 10 Jahre; $600\text{--}1200\mu\text{mol/l}$, milde Phenylketonurie, $n=21$, Alter 8 Tage bis 17 Jahre; $>1200\mu\text{mol/l}$, klassische Phenylketonurie, $n=7$, Alter 1 Tag bis 9 Jahre. Ein Defekt bei der 20 Tetrahydrobiopterin-Biosynthese oder beim Recycling von Tetrahydrobiopterin wurde durch eine Analyse der Pterinwerte im Urin und der Dihydropteridin-Reduktaseaktivität in Erythrozyten ausgeschlossen. Wir untersuchten 7 Patienten während der Neugeborenenperiode und 31, als sie schon älter waren. Erkrankte Geschwister ($n=5$) wurden ebenfalls mit in die 25 Untersuchung aufgenommen, denn es ist bekannt, daß nicht-genetische Faktoren die Phenylalaninhomeostase beeinflussen.

Kombinierter Phenylalanin und Tetrahydrobiopterin Belastungstest

Die Aufnahme von Phenylalanin wurde erreicht, indem man die Patienten eine Mahlzeit mit 100 mg Phenylalanin pro Kilogramm Körpergewicht zu sich nehmen ließ. Eine Stunde nach dem Ende der Mahlzeit nahmen die Patienten 20 mg Tetrahydrobiopterin pro Kilogramm auf (Schircks Laboratories, Jona, Schweiz). Die Phenylalanin-Konzentration im Blut wurde durch eine Elektrospray Ionisations-Tandemmassenspektroskopie bestimmt - vor der Aufnahme von Phenylalanin und vor und nach (bei 4, 8 und 15 Stunden) Provokation mit Tetrahydrobiopterin. Während der Testphase wurden die Neugeborenen mit Muttermilch ernährt, während die älteren Kinder eine standardisierte Proteinzufuhr (10 mg Phenylalanin pro Kilogramm) zwischen sechs und acht Stunden nach der Belastung mit Tetrahydrobiopterin erhielten.

In vivo Analyse der L-Phenylalaninoxidation

Die Tests wurden nach vierstündigem Fasten bei Kleinkindern und einem Fasten über Nacht bei älteren Kindern durchgeführt. Insgesamt wurden 6 mg L-[1-¹³C]Phenylalanin (Euriostop, Paris, Frankreich) pro Kilogramm Körpergewicht oral verabreicht. Der Tracer wurde in einer 25%igen Dextroselösung aufgelöst (2 mg pro Milliliter). Anschließend wurden Atemproben über einen Zeitraum von 180 Minuten genommen und in luftleeren Glasröhrchen bis zur Analyse mittels Isotopenmassenspektroskopie aufbewahrt (deltaS, Thermoquest, Bremen). Die Wiedergewinnung von Kohlenstoff-13 in den Atemproben wurde errechnet, wie durch Treacy et al. beschrieben, wobei eine Gesamtkohlendioxidproduktion von 300 mmol pro Stunde x Quadratmeter der Körperoberfläche angenommen wurde. Die ¹³CO₂-Produktion wurde als ein kumulativer Prozentsatz der verabreichten Dosis gegen die Zeit dargestellt. Die Gültigkeit der Ergebnisse bei den Neugeborenen könnte durch die Ernährung oder die Tatsache beeinflusst werden, daß die Atemprobennahme bei ihnen schwieriger ist, als bei älteren Kindern. Der

Basislinienprozensatz von ^{13}C , gemessen zum Zeitpunkt 0 unterschied sich jedoch bei den Neugeborenen und den älteren Kindern nicht signifikant. Die Werte wurden als unterhalb der Detektierbarkeit erachtet, wenn die Signalintensität des Atom%-Überschusses zum Zeitpunkt t, erhalten durch

5 Subtraktion des durchschnittlichen Basiswertes, keine ausreichende Unterscheidung vom atmosphärischen $^{13}\text{CO}_2$ zuließ. Im Durchschnitt waren weniger als 1 (ältere Kinder) und weniger als 2 (Neugeborene) von 27 aufeinanderfolgenden $^{13}\text{CO}_2$ -Messungen, die während der 180 Minuten eines Einzeltests erhalten wurden, nicht interpretierbar. Dies hat einen

10 vernachlässigbaren Einfluß auf die Endauswertung.

Analyse der Mutationen

DNA wurde aus den Leukozyten nach dem Standardverfahren extrahiert. 13 Genomfragmente, die die gesamte kodierende Sequenz

15 beinhalten, sowie die exonflankierende, intronische Sequenz des Phenylalaninhydroxylase-Gens wurden durch eine Polymerasekettenreaktion amplifiziert, gefolgt von einer direkten Sequenzierung.

20 Strukturbasierende Lokalisation von Phenylalanin-Hydroxylase-Genmutationen

Ein Gesamtlängenmodell der Tetrahydrobiopterin gebundenen Phenylalanin-Hydroxylase wurde von den Kristallstrukturen verschiedener trunkierter Formen erstellt, indem die katalytischen Bereiche mittels der von SWISS-

25 MODEL/Swiss-Pdb Viewer zur Verfügung gestellten Tools übereinander gelegt wurden.

Ergebnisse

Auswirkungen von Tetrahydrobiopterin auf die Phenylalanin-Konzentration im Blut und die Phenylalaninoxidationsraten

Die Patienten wurden als ansprechend auf Tetrahydrobiopterin klassifiziert, wenn die Phenylalanin-Konzentration im Blut 15 Stunden nach der Belastung mit Tetrahydrobiopterin um mindestens 30% im Vergleich zum Wert vor der Einnahme von Tetrahydrobiopterin gesunken war. Ein Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin wurde bei allen 10 Patienten mit einer milden Phenylalaninämie und bei 17 der 21 Patienten mit einer milden Phenylketonurie beobachtet. Nur 4 Patienten mit einer milden Phenylketonurie und alle 7 Patienten mit einer klassischen Phenylketonurie erfüllten das Kriterium des Ansprechens auf Tetrahydrobiopterin nicht (Fig. 1). Bei einigen Patienten sank die Phenylalaninkonzentration rasch ab, ähnlich wie man es bei Patienten mit einem Tetrahydrobiopterin-Synthesedefekt beobachten kann, während andere nur langsam reagierten und die niedrigste Phenylalaninkonzentration erst 15 Stunden nach der Cofaktorverabreichung erreichten (Daten nicht gezeigt).

20 Patienten mit unterschiedlichem klinischem Schweregrad der Erkrankung erreichten basale kumulative $^{13}\text{CO}_2$ Wiederfindungsraten, die jeweils ihre individuelle Rest-Phenylalanin-Oxidationskapazität (klassische Phenylketonurie, Mittelwert 1,4%; milde Phenylketonurie, 3,1%; milde Hyperphenylalaninämie, 5,6%; gesunde Vergleichsgruppe 9,0%) widerspiegeln. Nach der Behandlung mit Tetrahydrobiopterin (10 mg/kg Körpergewicht, 24 Stunden) stieg die Gesamt $^{13}\text{CO}_2$ Wiederfindung deutlich bei denselben Patienten an, die auf den Belastungstest angesprochen hatten. Der Anstieg war bei Patienten mit einer milden Phenylketonurie deutlicher ausgeprägt als bei Patienten mit einer milden

Hyperphenylalaninämie (Fig. 2A). Es ist bemerkenswert, daß 8 von 11 Patienten, die nicht ansprachen, einen milden Anstieg der Phenylalaninoxidation nach Kurzzeittherapie mit Tetrahydrobiopterin aufwiesen, wobei bei 3 dieser Patienten gleichzeitig auch der Phenylalaniningehalt im Blut beeinflußt wurde. Dies legt nahe, dass bei längerer Therapie auch bei schwereren Formen von Hyperphenylalaninämie geringe Verbesserung durch Tetrahydrobiopterinderivate erreicht werden könnte. Die Zeitkurven der fraktionierten $^{13}\text{CO}_2$ -Bildung zeigten deutliche Abweichungen vom normalen Oxidationsphänotyp (Fig. 2B, C, D und E). Nach Cofaktorverabreichung fiel die Kurve bei Patienten, die auf Tetrahydrobiopterin ansprechen, auf den normalen Wert ab (Fig. 2B und C), wobei sie bei Patienten, die nicht auf Tetrahydrobiopterin ansprachen, unverändert blieb.

Vor der Behandlung mit Tetrahydrobiopterin wiesen alle Patienten Phenylalanin-Konzentrationen im Blut von über 200 $\mu\text{mol/l}$ auf, und die kumulative $^{13}\text{CO}_2$ Wiederfindung lag unter 7% mit einer beachtlichen Überschneidung der Werte der Patienten, die ansprechen und der Patienten, die nicht ansprechen. Nach der Verabreichung von Tetrahydrobiopterin bildeten die beiden Patientengruppen zwei nicht überlappende Cluster. Unter den als Tetrahydrobiopterin-sensitiven Patienten fanden sich 4 Kinder, die ein moderates Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin zeigten (Fig. 3).

Es konnte eine beachtliche interindividuelle Variabilität beobachtet werden: Die Belastung mit Tetrahydrobiopterin reduzierte die Phenylalanin-Konzentrationen um 37 bis 92%, wenn man die Blutwerte vor und 15 Stunden nach Gabe von Tetrahydrobiopterin verglich. Bei 23 der 27 auf Tetrahydrobiopterin reagierenden Patienten gingen die Phenylalanin-Konzentrationen im Blut auf Werte von unter 200 $\mu\text{mol/l}$ zurück, wobei 4 Patienten Werte zwischen 200 und 400 $\mu\text{mol/l}$ erreichten. Bei Patienten, die nicht reagieren, überstieg die Konzentration von Phenylalanin nach der

Belastung mit Tetrahydrobiopterin stets 400 $\mu\text{mol/l}$. Tetrahydrobiopterin erhöhte die ^{13}C -Phenylalaninoxidationsraten um 10 bis 91% und 22 der 27 auf Tetrahydrobiopterin reagierenden Personen erreichten Oxidationsraten auf normalem Niveau. Bei den verbleibenden 5 Patienten zeigte sich eine
5 Verbesserung, ein normales Niveau wurde jedoch nicht erreicht. Obwohl im allgemeinen konsistent, zeigten sich bei manchen Patienten bemerkenswerte Uneinheitlichkeiten des Tetrahydrobiopterineffekts auf die beiden analysierten Endpunkte. (Beispiele in Fig. 4 angegeben). Bei einem Patienten mit klassischer Phenylketonurie trat ein leichter Anstieg der
10 Phenylalanin-Konzentration im Blut auf, sowie eine Verbesserung der Phenylalaninoxidationsrate, doch der Patient erfüllte das Kriterium des starken Ansprechens auf Tetrahydrobiopterin nicht (Fig. 4).

Langzeitbehandlung mit Tetrahydrobiopterin

15 Die Familien mit fünf Kindern im Alter von 4 bis 14 Jahren mit milder Phenylketonurie stimmten einem Therapieversuch zu, bei dem die phenylalaninarme Ernährung durch eine orale Verabreichung von Tetrahydrobiopterin in täglichen Dosen zwischen 7,1 und 10,7 mg/kg Körpergewicht ersetzt wurde. Die Behandlung dauerte $207 \pm 51,3$ Tage
20 (Durchschnitt \pm SD; Spanne 166-263). Die Cofaktorbehandlung führte zu einem Anstieg der täglichen Phenylalanintoleranz von $8,7 \pm 8,6$ mg/kg Körpergewicht (Spanne 8,8-30 vorher bei $61,4 \pm 27,9$ mg/kg Körpergewicht (Spanne 17,9-90) bei Behandlung ($P=0,0043$) mit geringer Auswirkung auf die Phenylalanin-Konzentration im Blut (während der diätetischen
25 Behandlung, 366 ± 120 $\mu\text{mol/l}$; während der reinen Cofaktorbehandlung, 378 ± 173 $\mu\text{mol/l}$).

Identifizierung und strukturbasierende Lokalisation von Phenylalanin-Hydroxylase-Genmutationen

Bei 37 von 38 Patienten wurden jeweils zwei mutante Allele identifiziert (Tabelle 1). Wir klassifizierten 7 Mutationen (P314S, Y417H, V177M, V245A, A300S, E390G, IVS4-5C>G) als *höchst wahrscheinlich* verantwortlich für das Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin, da sie entweder in homozygoter oder funktionell hemizygoter Form nachgewiesen wurden. Sechs weitere Mutationen stehen *möglicherweise*, aufgrund einer signifikanten *in vitro* Rest-Enzymaktivität (A403V, F39L, D415N, R158Q, I65T) wie bereits vorher beschrieben, oder aufgrund einer bekannten schweren Mutation auf dem zweiten Allel (S310Y) mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin in Verbindung. Vier Mutationen (Y414C, L48S, R261Q, I65V) zeigten einen *uneinheitlichen* Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin. Acht von 12 Missense-Mutationen, die im Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin stehen, befinden sich auf der katalytischen, wohingegen sich zwei auf der regulatorischen und zwei auf der Tetramerisierungs-Domäne befinden. Keine von ihnen hatte Auswirkungen auf Reste des aktiven Zentrums oder auf Aminosäuren, die direkt mit dem Cofaktor interagieren (Fig. 5).

20

Diskussion

Wir zeigen mehrere Beweisstränge auf, um deutlich zu machen, daß der metabolische Phänotyp des Mangels an Phenylalanin-Hydroxylase durch pharmakologische Dosen von Tetrahydrobiopterin oder dessen Derivate signifikant modifiziert werden kann. Erstens führte die Einnahme von Tetrahydrobiopterin bei den meisten Patienten mit einer Phenylalanin-Hydroxylase-Rest-Enzymaktivität zu normalen oder annähernd normalen Phenylalanin-Konzentrationen im Blut, was nahelegt, daß das Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin bei Patienten, die phänotypisch nur leichte

30

Symptome aufweisen, weitverbreitet ist. Zweitens erhöhte Tetrahydrobiopterin die verbliebene Phenylalanin-Oxidationsfähigkeit bei diesen Patientengruppen. Drittens führte Langzeitbehandlung mit Tetrahydrobiopterin zu einer signifikanten Verbesserung der Proteintoleranz und Wegfall der Notwendigkeit zu einschränkender Diättherapie.

Wir zeigen, daß der *in vitro* Phenylalaninoxidations-Test eine Einteilung von Patienten mit Hyperphenylalaninämie in verschiedene Klassen unterschiedlicher Schwere ermöglicht. Diese Ergebnisse stimmen mit den Daten über die Fähigkeit des Verfahrens überein, die Phenylalanin-Hydroxylase-Gen-Dosis zu messen. Aufgrund der multifaktoriellen Natur der Hyperphenylalaninämie ist die Phenylalanin-Oxidationsgeschwindigkeit im ganzen Körper nicht ein einfaches Äquivalent der Phenylalaninhydroxylase-Aktivität. Der Rückgang des Phenylalaningehalts im Blut wurde von einer Verbesserung der *in vivo* Phenylalanin-Oxidationsfähigkeit bei allen Patienten begleitet, die auf Tetrahydrobiopterin ansprechen. Alles in allem stimmen diese Beobachtungen mit der Hypothese überein, daß die Fehlfaltung des Enzyms und die gestörte Phenylalanin-Hydroxylase Aktivität durch Tetrahydrobiopterin verbessert werden kann. Das Ausmaß der Verbesserung im Phenylalaninabbau entsprach nicht immer der Verbesserung der Phenylalaninoxidation, ein nicht unerwartetes Ergebnis für einen genetisch bestimmten Enzymmangel im allgemeinen und für einen Mangel an Phenylalanin-Hydroxylase im speziellen. Wir beobachteten langsame und schnelle Reaktionen, ebenso wie Unterschiede im Zeitverlauf und im relativen Ausmaß der $^{13}\text{CO}_2$ -Bildung, was darauf hindeutet, daß Tetrahydrobiopterin seine Wirkung durch verschiedene Wirkungsweisen und – in Abhängigkeit vom Ausmaß der Proteinfehlfaltung – mit unterschiedlicher Effizienz entfaltet. Neben dem Vorschlag, daß eine hoch dosierte Tetrahydrobiopterin-Behandlung eine verringerte Affinität der defekten Phenylalanin-Hydroxylase gegenüber Tetrahydrobiopterin kompensieren könnte, müssen zusätzliche Wirkungsweisen in Betracht gezogen werden.

Eine Behandlung mit Tetrahydrobiopterin könnte zusätzlich die Phenylalanin-Hydroxylase-Genexpression hochregulieren, Phenylalanin-Hydroxylase mRNA stabilisieren, die funktionale Phenylalanin-Hydroxylase-Tetramerbildung erleichtern oder ein falsch gefaltetes Enzymprotein vor
5 einem proteolytischen Verdau schützen.

Vorhersagen über den Phänotyp anhand des Genotyps können bei komplexen, durch genetisch multifaktoriell bedingten Erkrankungen, , wie bei Hyperphenylalaninämie, schwierig sein. In der Gruppe der Patienten, die auf Tetrahydrobiopterin ansprachen, identifizierten wir überwiegend "milde"
10 Genotypen, wohingegen die Genotypen der Patienten, die nicht ansprachen, überwiegend "schwer" waren. Die experimentellen Hinweise auf den Zusammenhang verschiedener Mutationen mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin sind unterschiedlich konsistent und Voraussagen anhand des Genotyps sind deshalb vor allem bei Vorliegen doppelter
15 Heterozygotie schwierig. Es ist bekannt, daß die Y414C Mutation bei mehr als einem klinischen Phänotyp auftritt. Wir identifizierten diese Mutation in einem funktionell hemizygoten Stadium bei zwei Patienten mit identischen Genotypen aber abweichenden Reaktionen auf Tetrahydrobiopterin. Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, daß sich die Einflüsse
20 multipler modifizierender Genorte bei Hyperphenylalaninämie unterschiedlich auswirken. Im homozygoten Zustand, der auf eine homopolymere Tetramerbildung schließen läßt, wurde festgestellt, daß die Y414C sowie die L48S Mutationen ein Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin bedingen. Im funktionell hemizygoten Zustand entdeckten wir diese
25 Mutationen jedoch bei Einzelpersonen mit klassischer Phenylketonurie, die nicht auf Tetrahydrobiopterin reagierten. Unter diesen Umständen könnte die Heteropolymerisation die Bildung von funktionellen Tetrameren behindern.

Unsere Daten bestätigen die Annahme, daß die meisten Missense-
30 Mutationen im Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin

in der katalytischen Domäne des Proteins liegen, jedoch nicht in Reste des aktiven Zentrums betreffen und auch nicht direkt an der Cofaktorbindung beteiligt sind. Diese Mutationen können bei einem Monomer Auswirkungen auf die Interaktionen zwischen den Domänen haben oder Reste auf den

5 Berührungsflächen der Dimere oder Tetramere beeinflussen und damit zu Fehlfaltung der Proteine und reduzierter Enzymaktivität führen. Tetrahydrobiopterin dient so als ein chemisches Chaperon und verhindert dies.

Früher wurden *in vitro* Expressionsanalysen angewendet um den

10 funktionellen Einfluß der Phenylalanin-Hydroxylase-Genmutationen *in vivo* vorherzusagen. Eine Überschätzung der Phenylalanin-Hydroxylase-Aktivitäten *in vitro* im Vergleich zu jenen *in vivo* konnte dabei beobachtet werden. Dies könnte durch die Tatsache erklärt werden, daß die *in vitro* Expressionsanalyse bisher nahezu ausschließlich in Gegenwart von hohen

15 Konzentrationen natürlicher oder synthetischer Cofaktoren ausgeführt wurde, was Genotyp-Phänotyp-Korrelation erschwerte. Überarbeitete experimentelle Protokolle, , sollten eine Reihe unterschiedlicher Tetrahydrobiopterin-Konzentrationen beinhalten, um den intrinsischen Schweregrad der Mutationen beurteilen zu können.

20 Da man aus den prätherapeutischen Plasmaphenylalankonzentrationen nicht darauf schließen kann, ob und wie auf Tetrahydrobiopterin angesprochen wird, ist eine neue klinische Klassifizierung ratsam: (1) *Hyperphenylalaninämie, bei der nicht auf Tetrahydrobiopterin angesprochen wird*, (2) *Hyperphenylalaninämie, bei der*

25 *auf Tetrahydrobiopterin angesprochen wird*, beinhaltend (a) einen auf Tetrahydrobiopterin reagierenden Mangel an Phenylalanin-Hydroxylase und (b) Störungen im Tetrahydrobiopterin-Biosynthese-Weg. Ein Phenylalanin-Tetrahydrobiopterin Belastungstest mit einer ausgedehnten Beobachtungsphase (≥ 15 Stunden) kann zuverlässig zwischen Patienten,

30 die ansprechen und Patienten, die nicht ansprechen unterscheiden und

sollte bei allen Personen, die an einer Hyperphenylalaninämie leiden, durchgeführt werden um eine sichere Identifizierung der Patienten, die von einer Tetrahydrobiopterin-Behandlung profitieren könnten, sicherzustellen. Unsere auf einen kurzen Zeitraum angelegte Studie schließt die Möglichkeit
5 nicht aus, daß leichte Effekte sogar bei einigen Patienten mit klassischer Phenylketonurie erst nach einer längeren Behandlung zutage kommen.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß eine Langzeittherapie mit Tetrahydrobiopterin zu einer erhöhten Phenylalanintoleranz führt. Eine Cofaktorbehandlung, anstelle der belastenden Spezialdiät, ist für viele
10 Patienten geeignet und man kann erwarten, daß die Behandlung mit Tetrahydrobiopterinderivaten zu einer ansehnlichen Verbesserung der Lebensqualität führt. Insbesondere sollte der Zusatz dieser Verbindungen zu Nahrungsmitteln die Gestaltung der ansonsten sehr schwierigen Ernährung erheblich erleichtern. Eine Tetrahydrobiopterin-Behandlung könnte ebenfalls
15 bei einer mütterlichen Phenylketonurie hilfreich sein, da die strikte metabolische Einstellung während der Schwangerschaft sehr schwierig, aber sehr wichtig ist, um schwerwiegende negative Auswirkungen beim Neugeborenen zu vermeiden. Wie sicher oder nebenwirkungsfrei die Einnahme von Tetrahydrobiopterin während der Schwangerschaft ist, wurde
20 jedoch noch nicht festgestellt. Weltweit wurden insgesamt mehr als 350 Patienten mit einem Mangel an Tetrahydrobiopterin mit dem Cofaktor behandelt. Bei einer Beurteilung der Sicherheit wurden einige dosisabhängige unerwünschte Nebenwirkungen wie Schlafstörungen, Polyurie und dünner Stuhl beobachtet (BIOPTEN® Approbationszettel,
25 Suntory, Japan).

Einige Hindernisse müssen aus dem Weg geräumt werden, bis die Behandlung mit Tetrahydrobiopterin zu einer Routinebehandlung werden kann. Erstens ist Tetrahydrobiopterin in den meisten Ländern noch kein zugelassenes Medikament. Zweitens ist es immer noch teuer. Drittens
30 werden noch Studien über die zu verabreichenden Dosen, sowie klinische

Untersuchungen im Hinblick auf die Bioverfügbarkeit und die noch unbekannten Langzeitnebenwirkungen von Tetrahydrobiopterin bei Phenylalanin-Hydroxylase-Mangel benötigt.

5 Zusammenfassend kann gesagt werden, dass wir zeigen, daß pharmakologische Dosen von Tetrahydrobiopterin bei den meisten Patienten mit Hyperphenylalaninämie eines weniger schweren Phänotyps über eine Behebung von Proteinfehlfaltung eine gestörte Phenylalaninoxidation deutlich verbessern oder ganz normalisieren können. Darüber hinaus kann eine verbesserte Proteintoleranz und eine Lockerung der diätetischen
10 Maßnahmen erreicht werden. Diese Erkenntnisse sind für das diagnostische Vorgehen, die klinische Klassifikation und das therapeutisch Vorgehen von Bedeutung. In naher Zukunft wird die Cofaktorbehandlung viele Patienten von ihrer sehr belastenden Einschränkung der Ernährung befreien.

TABELLE 1. GENOTYPEN VON PATIENTEN MIT TETRAHYDROBIOPTERIN-SENSITIVER UND NICHT-SENSITIVER HYPERPHENYLALANINÄMIE

ID	ALLEL 1	ALLELE 2	PHÄNOTYP	TETRAHYDROBIOPTERIN-SENSITIVITÄT
1	A403V	IVS4+5G>T	Milde	Ja
2	A403V	n.i.	Milde	Ja
3	<u>P314S*</u>	R408W [†]	Milde	Ja
4	F39L	D415N	Milde	Ja
5	Y414C	D415N	Milde	Ja
6	<u>Y417H*</u>	<u>Y417H*</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
7	F55L	S310Y*	Milde	Ja
8	<u>R261Q</u>	Y414C	Milde Phenylketonurie	Ja
9	<u>V177M</u>	R408W [†]	Milde	Ja
10	P275L*	Y414C	Milde Phenylketonurie	Ja
11	<u>V245A</u>	R408W [†]	Milde	Ja
12	L48S	R158Q	Milde Phenylketonurie	Ja
13	<u>Y417H*</u>	<u>Y417H*</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
14	<u>V245A</u>	R408W [†]	Milde	Ja
15	R261X [†]	<u>A300S</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
16	R158Q	<u>E390G</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
17	R261X [†]	<u>A300S</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
18	<u>Y414C</u>	IVS12+1G>A [†]	Milde Phenylketonurie	Ja
19	I65S*	A300S	Milde Phenylketonurie	Ja
20	<u>R261Q</u>	Y414C	Milde Phenylketonurie	Ja
21	K274fsdel11b	<u>E390G</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
22	<u>IVS4-5C>G</u>	R408W [†]	Milde Phenylketonurie	Ja
23	R261X [†]	<u>A300S</u>	Milde Phenylketonurie	Ja
24	I65T	Y414C	Milde Phenylketonurie	Moderat
25	<u>E390G</u>	IVS12+1G>A [†]	Milde Phenylketonurie	Moderat
26	I65V	R261Q	Milde	Moderat
27	R158Q	Y414C	Milde Phenylketonurie	Moderat

Tabelle 1 - Fortsetzung

ID	ALLEL 1	ALLELE 2	PHÄNOTYP	TETRAHYDROBIOPTERIN-SENSITIVITÄT
28	Y414C	IVS12+1G>A [†]	Klassische	Nein
29	P281L [†]	Y414C	Milde Phenylketonurie	Nein
30	I65V	IVS12+1G>A [†]	Milde Phenylketonurie	Nein
31	I65V	IVS12+1G>A [†]	Milde Phenylketonurie	Nein
32	N61D*	<i>R261Q</i>	Milde Phenylketonurie	Nein
33	R408W [†] , R413P	Y414C	Klassische	Nein
34	P281L [†]	P281L [†]	Klassische	Nein
35	R243X [†]	Y414C	Klassische	Nein
36	L48S	P281L [†]	Klassische	Nein
37	<i>R261Q</i>	R408W [†]	Klassische	Nein
38	R243X [†]	IVS7+1G>A	Klassische	Nein

5 Mutationen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit mit Tetrahydrobiopterin-Sensitivität assoziiert sind, sind grau hinterlegt

Mutationen, die potentiell mit Tetrahydrobiopterin-Sensitivität assoziiert sind, sind fett gedruckt

Mutationen, die inkonsistent mit Tetrahydrobiopterin-Sensitivität assoziiert sind, sind kursiv

10 gedruckt

* Bisher nicht beschriebene Mutation

[†] Putative Nullmutation

n.i. nicht identifiziert

Figurenlegende

Figur 1

5 Wirkung von Tetrahydrobiopterin auf die Phenylalaninkonzentration im Blut. Phenylalaninkonzentration im Blut (Phe) vor der Phenylalaninbelastung und vor und nach der Herausforderung durch Tetrahydrobiopterin (BH_4). Die Kästchen stellen das 50%ige Vertrauensintervall dar (25. - 75. Percentile);
10 die horizontalen schwarzen Balken stellen die Mediane dar; die Fehlerbalken zeigen die Spanne zwischen Minimum und Maximum an. Der Wert P betrifft die Differenz zwischen dem Phenylalaningehalt im Blut vor und 15 Stunden nach der Verabreichung von Tetrahydrobiopterin.

15 Figur 2

Wirkung der Kurzzeitbehandlung mit Tetrahydrobiopterin auf die Phenylalaninoxidation in vivo. A kumulative $^{13}\text{CO}_2$ (180 min.)-Wiederfindung vor und nach der Behandlung mit Tetrahydrobiopterin (BH_4). Die Kästchen
20 stellen das 50%ige Vertrauensintervall dar (25. - 75. Percentile); die horizontalen schwarzen Balken stellen die Mediane dar; die Fehlerbalken zeigen die Spanne zwischen Minimum und Maximum. B-E Fraktionalanalyse der $^{13}\text{CO}_2$ -Bildung bei repräsentativen Patienten mit einer beeinträchtigten Phenylalaninhydroxylase vor (\square) und nach (λ) einer Kurzzeitbehandlung mit
25 Tetrahydrobiopterin.

Figur 3

Beziehung zwischen der kumulativen $^{13}\text{CO}_2$ Wiederfindung (180 min.) und
30 der Phenylalaninkonzentration im Blut vor und nach der Behandlung mit

Tetrahydrobiopterin (BH₄). Patienten, die auf Tetrahydrobiopterin nicht ansprechen: O; Patienten, die auf Tetrahydrobiopterin ansprechen: λ; Patienten, die moderat auf Tetrahydrobiopterin ansprechen: λ.

5 **Figur 4**

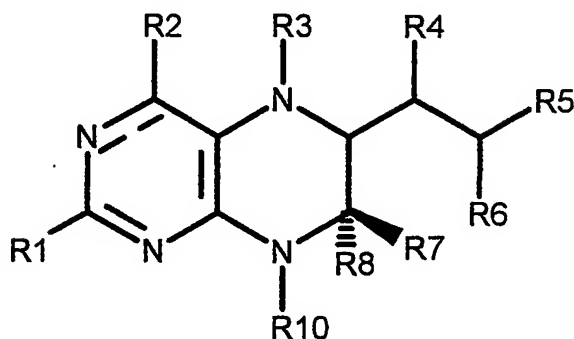
Wirkung von Tetrahydrobiopterin auf die periphere Phenylalanin-Clearance und auf die Oxidationsraten bei einzelnen Hyperphenylalaninämiepatienten. Die Phenylalaninkonzentration im Blut vor (ausgefüllter Balken) und 15
10 Stunden nach der Verabreichung von Tetrahydrobiopterin (BH₄) (dunkelgrauer Balken). Die durch Tetrahydrobiopterin bei einzelnen Patienten erhaltenen, positiven Wirkungen werden durch einen schwarzen Pfeil dargestellt (oberes Feld). Kumulative ¹³CO₂ Wiederfindung (180 min.) vor (hellgrauer Balken) und nach der Verabreichung von Tetrahydrobiopterin
15 (ausgefüllter Balken). Die durch Tetrahydrobiopterin verursachte Verbesserung bei einzelnen Patienten wird durch einen schwarzen Pfeil (unteres Feld) dargestellt. Die normale Spanne (n. r.) für die in vivo Phenylalaninoxidation, die durch eine gesunde Kontrollgruppe im Alter von 2 Tagen bis 13 Jahren festgesetzt wurde, wird angegeben (8.3±2.8%;
20 Durchschnitt±SD, n=12). Unregelmäßigkeiten bei der Wirkung von Tetrahydrobiopterin: deutlicher Rückgang der Phenylalaninkonzentration im Blut, jedoch geringe Erhöhung der Phenylalaninoxidation bei einem Patient (λ) und geringe Wirkung auf die Phenylalaninkonzentration im Blut sowie eine große Erhöhung der Phenylalaninoxidation bei einem anderen
25 Patienten (H). Leichtes Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin entspricht nicht dem Kriterium des Ansprechens auf Tetrahydrobiopterin bei einem Patienten mit klassischer Phenylketonurie (v).

Figur 5

Strukturelle Lokalisierung von Phenylalanin-Hydroxylase Missense-Mutationen. Das Phenylalanin-Hydroxylase-Monomer, dargestellt in Form eines Bandes, setzt sich aus drei funktionellen Domänen zusammen: die regulatorische Domäne (Reste 1-142), die katalytische Domäne (Reste 143-410), und die Tetramerisierungsdomäne (Reste 411-452). Das Eisen am aktiven Zentrum (brauner Bereich, teilweise verdeckt) und das Cofaktor-Analog 7,8-Dihydro-Tetrahydrobiopterin Stabmodell (stick model) befinden sich auf der katalytischen Domäne. Mutationen, die *höchstwahrscheinlich* mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin in Verbindung stehen, sind türkisfarben dargestellt. Mutationen, die *möglicherweise* mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin in Verbindung stehen, sind grün dargestellt. Mutationen, die *uneinheitlich* mit dem Ansprechen auf Tetrahydrobiopterin in Verbindung stehen, sind purpurrot dargestellt.

Ansprüche

- 5 1. Verwendung wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



10

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl; wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

15

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

20

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

25

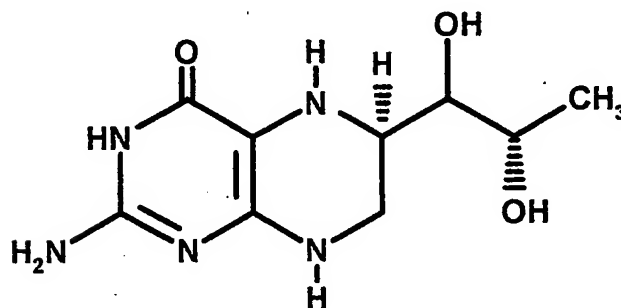
worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist; worin R₁₀ ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

deren pharmazeutisch akzeptablen Salze;

zur Herstellung eines Medikamentes zur Verbesserung der Proteintoleranz zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid oder Sulfat, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid; und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

5

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass man als Salze Hydrochloride oder Sulfate einsetzt.

10

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Aminosäurestoffwechselstörungen umfassen: Zustände mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin in Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen umfaßt, insbesondere Zustände mit verringerter Phenylalaninhydroxylaseaktivität, insbesondere Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere orthostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom), muskuläre Dystonie; sowie Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie; Phenylketonurie, insbesondere milde Phenylketonurie, klassische Phenylketonurie; Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo.

15

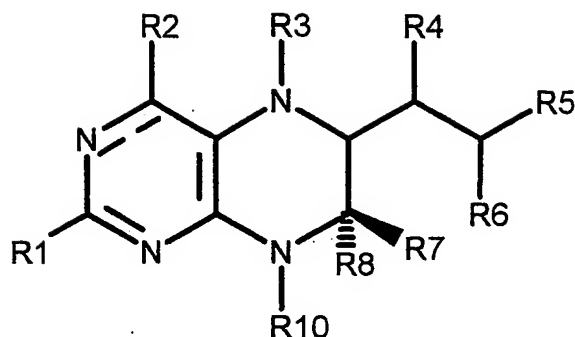
20

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man als pharmazeutisch akzeptables Salz ein Hydrochlorid verwendet.

25

6. Verwendung von wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeinen Formel als Chaperon:

30



5 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

10 worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

 worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

15 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

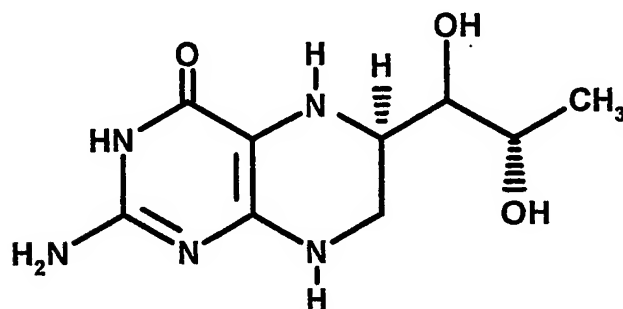
 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

20 worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.

7. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

8. Verwendung nach Anspruch 6 oder 7 zur Verbesserung von Proteinmißfaltung, insbesondere bei Strukturanomalien in Enzymen, die Tetrahydrobiopterin als Cofaktor benötigen.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Enzyme ausgewählt werden aus: Phenylalaninhydroxylase, Tyrosinhydroxylase, Tryptophanhydroxylase, oder NO-Synthase.

5

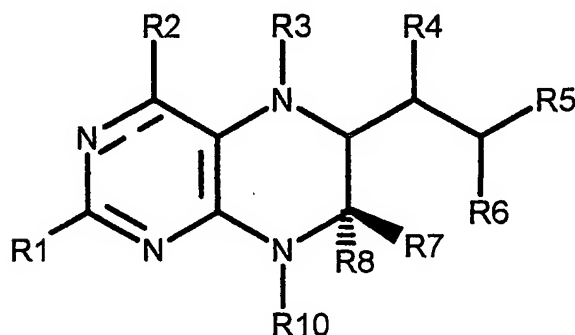
10. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Chaperon als Neurotransmitter- und/oder Botenstoff-Enhancer verwendet wird, insbesondere bei Zuständen mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin, Serotonin oder Dopamin in Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere bei Zuständen mit verringerter Phenylalaninhydroxylase-, Tyrosinhydroxylase-, Tryptophanhydroxylase- und NO-Synthaseaktivität verwendet wird.

10

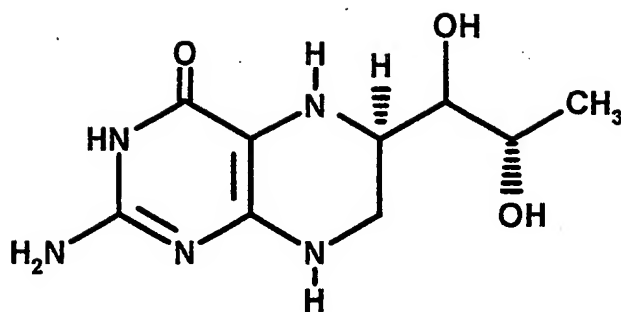
15

11. Verwendung von wenigstens einer Verbindung gemäß folgender allgemeiner Formel als Neurotransmitter- oder als Botenstoff-Enhancer, insbesondere für Catecholamine und/oder Serotonin und/oder Dopamin und oder Stickoxid(NO):

20



- 5 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;
- worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;
- worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;
- 10 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;
- 15 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;
- worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;
- 20 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.
- 25 12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

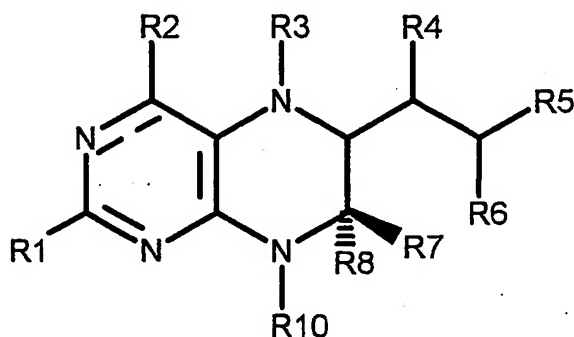
2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

13. Zusammensetzung enthaltend wenigstens eine Verbindung
mit folgender allgemeiner Formel:



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH,
SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl,
wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält,

insbesondere CH_3O , bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, O, S;

5 worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH_3 , C_2H_5 ;

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere
10 ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH_2 , F, Cl, Br, I, CH_3 ,
15 COOH , CHO , COOR_9 , wobei R_9 CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH_3 , C_2H_5 , und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

20 deren pharmazeutisch akzeptablen Salze; sowie

wenigstens eine Aminosäure enthaltend, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus den essentiellen Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin; sowie aus den nicht essentiellen Aminosäuren,
25 insbesondere Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin.

14. Zusammensetzung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie die essentiellen Aminosäuren, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin und zusätzlich wenigstens eine
5 der Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin enthält.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Kohlehydrate, insbesondere
10 Glucose, und/oder Vitamine enthält.

16. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass sie als oral oder intravenös zu
15 verabreichendes Präparat formuliert ist.

17. Zusammensetzung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Präparat als Pulver, Tablette, Kapsel, Dragee in Tropfenform oder für topische Anwendungen,
20 insbesondere Salben; sowie als Lösung zur intravenösen Anwendung, formuliert ist.

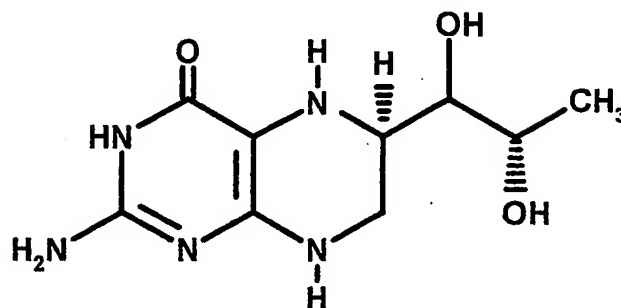
18. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass sie als eine pharmazeutische
25 Zusammensetzung, gegebenenfalls mit pharmazeutisch-galenisch üblichen Hilfsstoffen, ausgebildet ist.

19. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass sie als diätetische
30 Zusammensetzung, gegebenenfalls mit lebensmitteltechnisch

üblichen Hilfsstoffen, insbesondere Emulgatoren, bevorzugt Lecitin, Cholin, ausgebildet ist.

- 5 20. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Mineralstoffe und/oder Elektrolyte enthält, welche ausgewählt sind aus: Mineralsalzen; Salinensalzen; Meersalzen; Spurenelementen, insbesondere Selen, Mangan, Kupfer, Zink, Molybdän, Jod, Chrom; Alkaliionen, insbesondere Lithium, Natrium, Kalium; Erdalkaliionen, 10 insbesondere Magnesium, Calcium; Eisen.
- 15 21. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Phenylalanin enthält.
22. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich L-Carnitin enthält.
- 20 23. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Myoinosit und Cholin enthält.
- 25 24. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß sie Antioxidantien, insbesondere Vitamin C enthält.
- 25 25. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin,

Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



5

(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

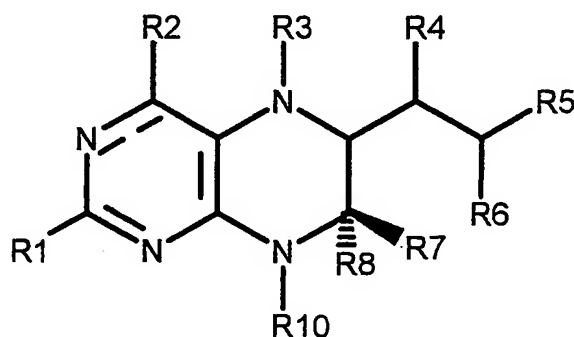
insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

10

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

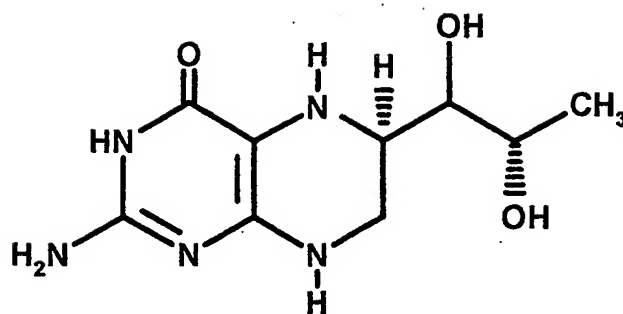
15

26. Verwendung wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



20

- 5 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;
- worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;
- worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;
- 10 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;
- 15 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;
- worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;
- 20 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie deren geeignete Salze;
- als Nahrungsergänzungsmittel.
- 25 27. Verwendung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

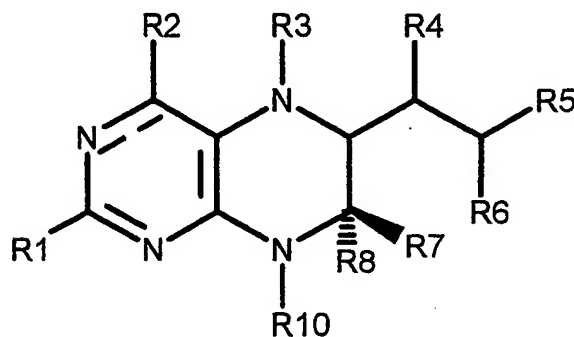
2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

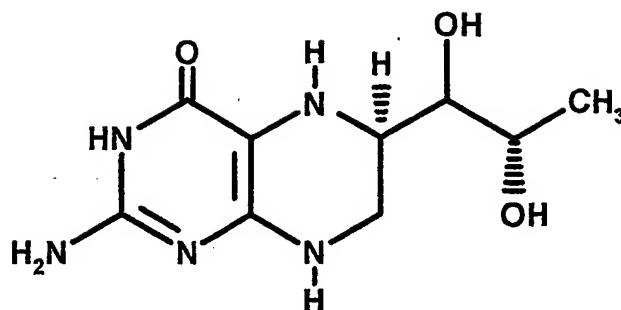
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

28. Spezialnahrung auf Basis von im wesentlichen
phenylalaninfreien Aminosäuremischungen, dadurch
gekennzeichnet, dass sie wenigstens eine Verbindung mit
folgender allgemeiner Formel enthält:



- 5 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;
- worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;
- worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;
- 10 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;
- 15 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;
- worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;
- 20 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie
- deren lebensmitteltechnisch akzeptablen Salze.
- 25 29. Spezialeahrung nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass sie wenigstens eine Verbindung enthält, welche ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere deren Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

30. Spezialnahrung nach Anspruch 28 oder 29, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Kohlehydrate, insbesondere Glucose, Maltodextrin, Stärke und/oder Fette, wie Fischöl, insbesondere Lachsöl, Heringsöl, Makrelenöl, oder Thunfischöl; enthalten.

31. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass sie hypoallergen und/oder im wesentlichen glutenfrei ist.

32. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Säuglingsnahrung ist.

33. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Pulver, insbesondere als Lyophilisat, vorliegt.

5 34. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich Fettsäuresupplemente, insbesondere ungesättigte Fettsäuren, vorzugsweise Omega-3-Fettsäuren, insbesondere Alphalinolensäure, Docosahexaensäure, Eicosapentaensäure, oder Omega-6
10 Fettsäuren, insbesondere Arachidonsäure, Linolsäure, Linolensäure; oder Ölsäure enthält.

35. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 34, dadurch gekennzeichnet, daß sie Fischölzusätze, insbesondere aus
15 Lachs-, Hering-, Makrelen- oder Thunfischöl, enthält.

36. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 35, dadurch gekennzeichnet, daß sie als Milchersatzmittel, insbesondere für Säuglinge, verwendbar ist.

20

37. Spezialnahrung nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, dass das Milchersatzmittel einen Fettanteil aufweist, wobei insbesondere 90% als Triglyzeride, 10% als Mono- und Diglyzeride vorliegen.

25

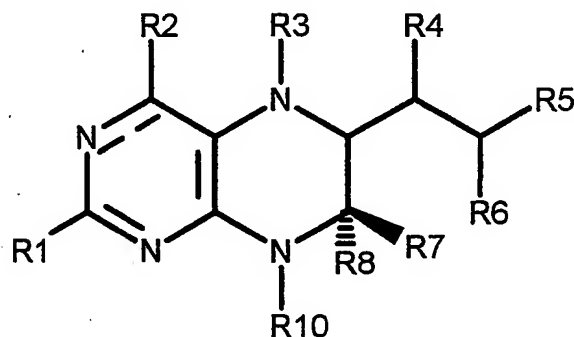
38. Spezialnahrung nach Anspruch 37, dadurch gekennzeichnet, dass der Fettanteil Distelöl und/oder Sojaöl und/oder Kokosöl umfasst.

39. Spezialnahrung nach einem der Ansprüche 28 bis 38, dadurch gekennzeichnet, daß das Milchersatzmittel als Milchmixgetränk, insbesondere Fruchtmilchmixgetränk oder Kakao ausgebildet ist.

5

40. Phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel, enthaltend ein proteinarmes Grundnahrungsmittel sowie wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:

10



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

15

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

20

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere

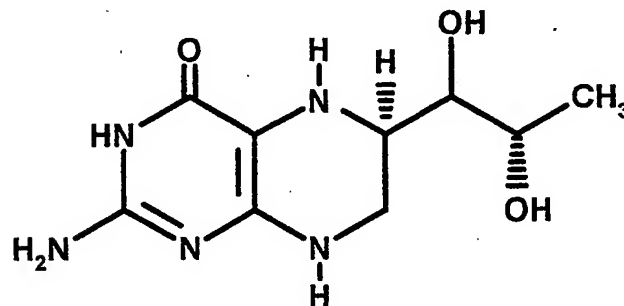
ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie deren lebensmitteltechnisch akzeptablen Salze.

41. Phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass sie wenigstens eine Verbindung enthält, welche ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere deren Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

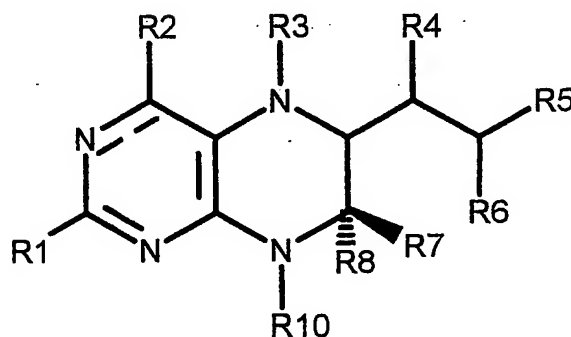
2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

42. Phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel nach Anspruch 40
oder 41, dadurch gekennzeichnet, daß es ausgewählt ist aus:
Fertiggerichte; Teigwaren, insbesondere Nudeln; Backwaren,
insbesondere Brot, Kuchen, Kekse; Süßwaren, insbesondere
Schokolade, Bonbons, Eis; Getränke, insbesondere
Milchersatzmittel, ausgebildet als Milchmixgetränk, insbesondere
als Fruchtmilchmixgetränk oder Kakao; sowie Bier.

43. Diagnostikum zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-Sensitivität
bei Erkrankungen des Aminosäurestoffwechsels einhergehen,
enthaltend wenigstens eine Verbindung mit folgender
allgemeiner Formel:



worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH,
SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl,
wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält,
insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis
20 Kohlenstoffatome, enthält;

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

5 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

10 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;

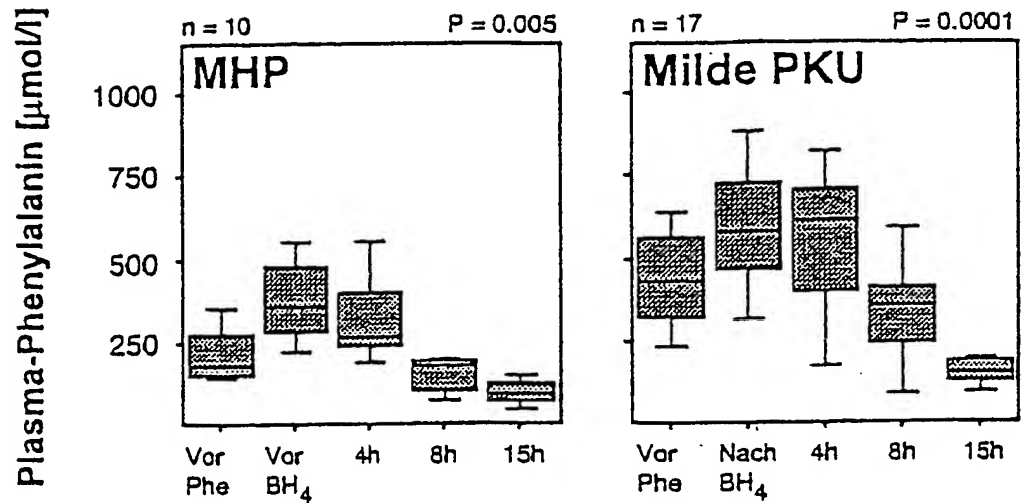
15 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt;

insbesondere 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin; sowie deren pharmazeutisch akzeptablen Salze.

20 44. Verwendung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Zustände umfassen: Phenylketonurie, insbesondere milde Phenylketonurie, klassische Phenylketonurie; Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo; sowie Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere orthostatische Hypotension (Shy-Drager
25 Syndrom), muskuläre Dystonie; sowie Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie; Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Dopamin oder Serotonin als Folge von Tyrosinhydroxylase- oder Tryptophanhydroxylasemangel, insbesondere Parkinsonismus, depressive Erkrankungen sowie dystone

Bewegungsstörungen, Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität, insbesondere endotheliale Dysfunktion, mangelnde Infektabwehr.

BH₄ - sensitiv



BH₄ - nicht sensitiv

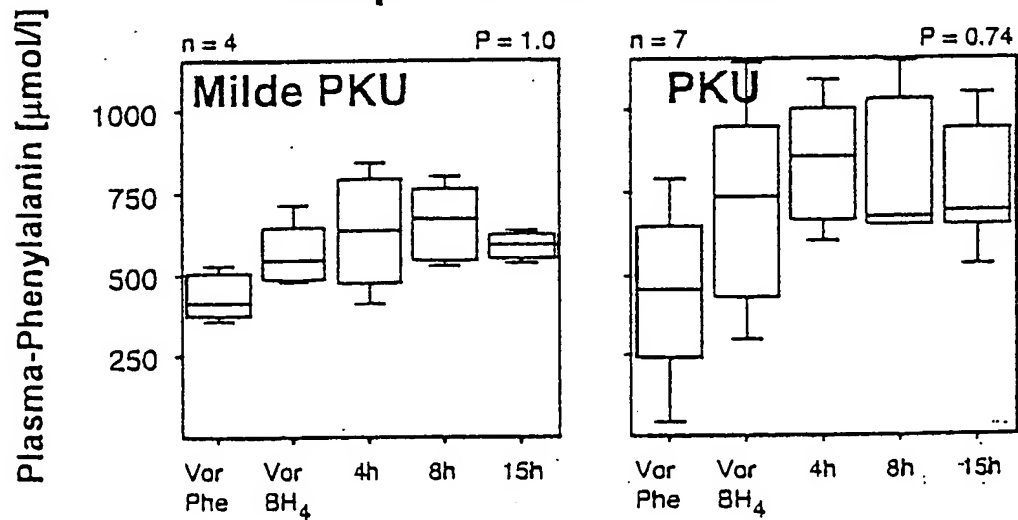


Fig. 1

2.1/5

A

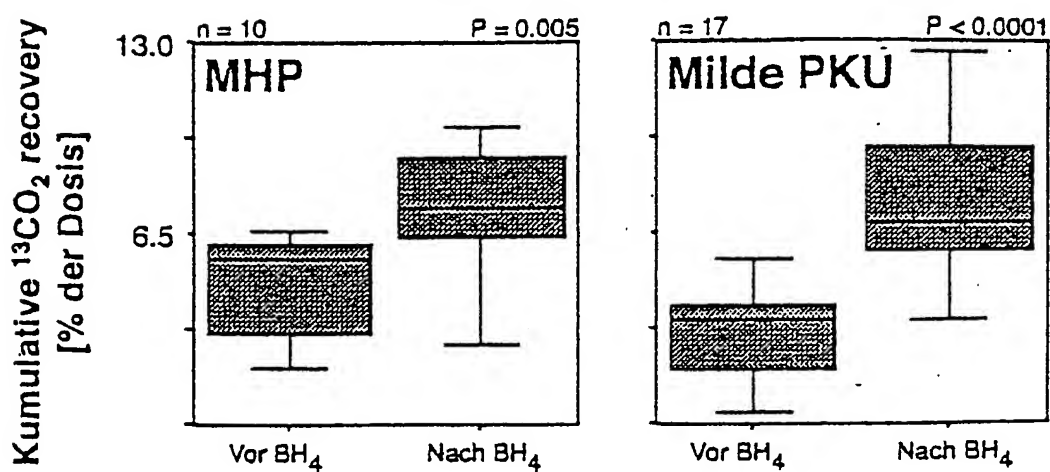
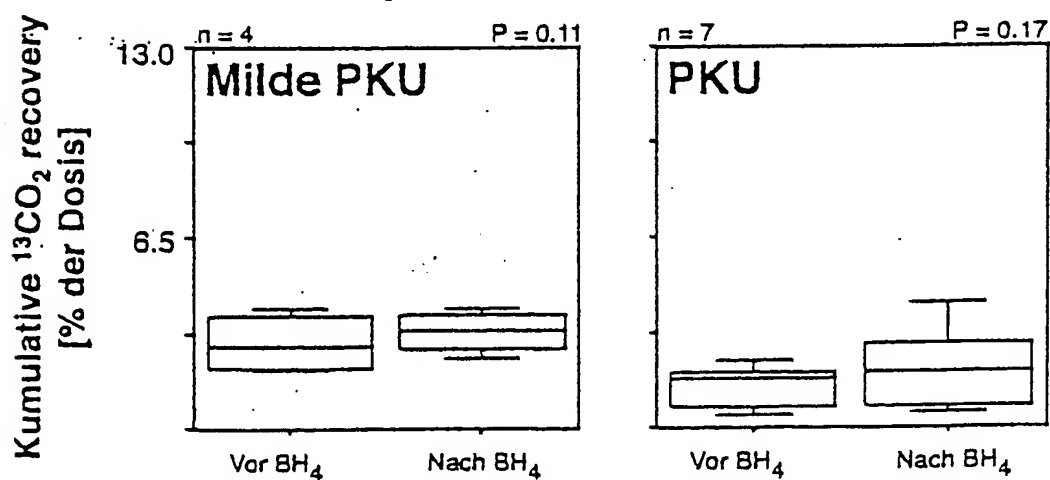
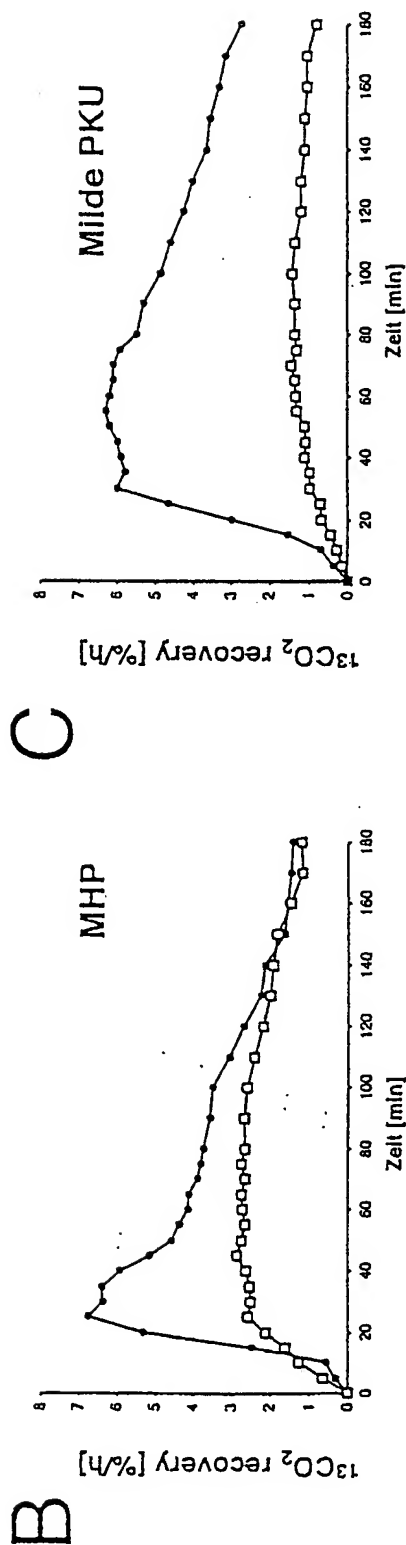
BH₄ - sensitiv**BH₄ - nicht sensitiv**

Fig. 2

10/539842

2.2/5

BH₄ - sensitiv



BH₄ - nicht sensitiv

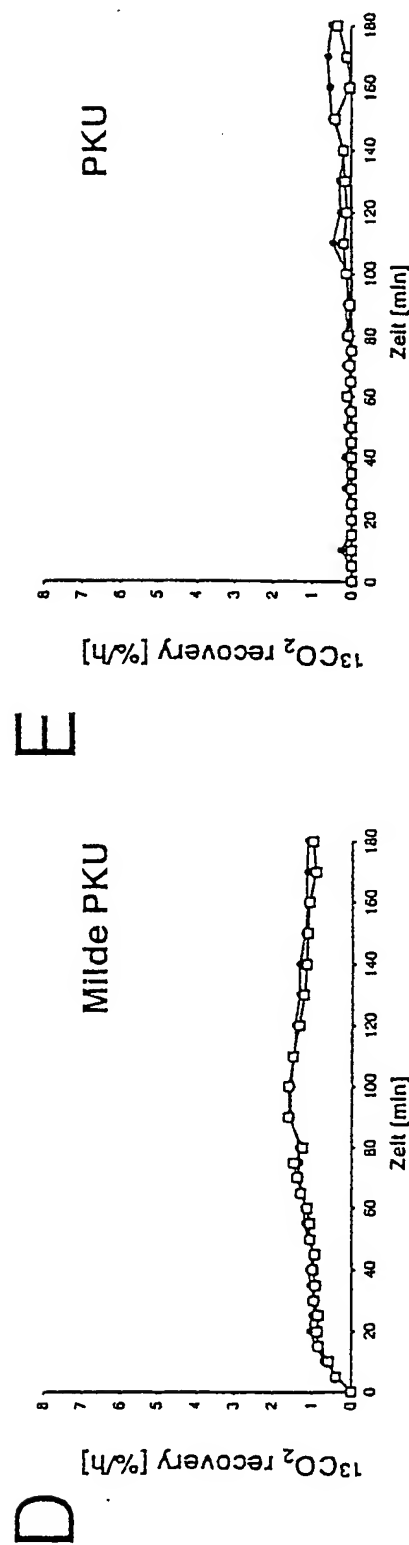


Fig. 2 Fortsetzung

3/5

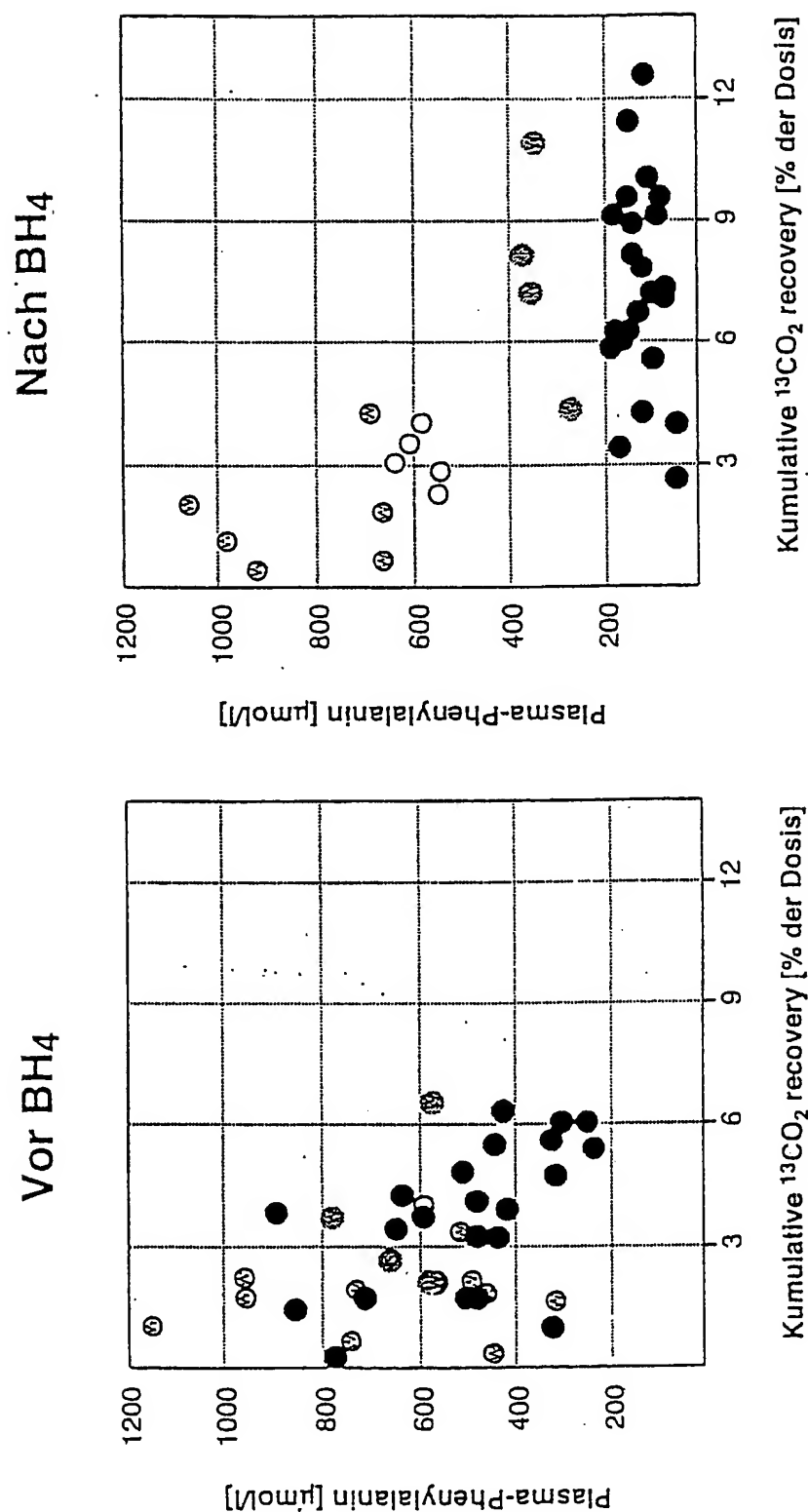


Fig. 3

10/539842

4/5

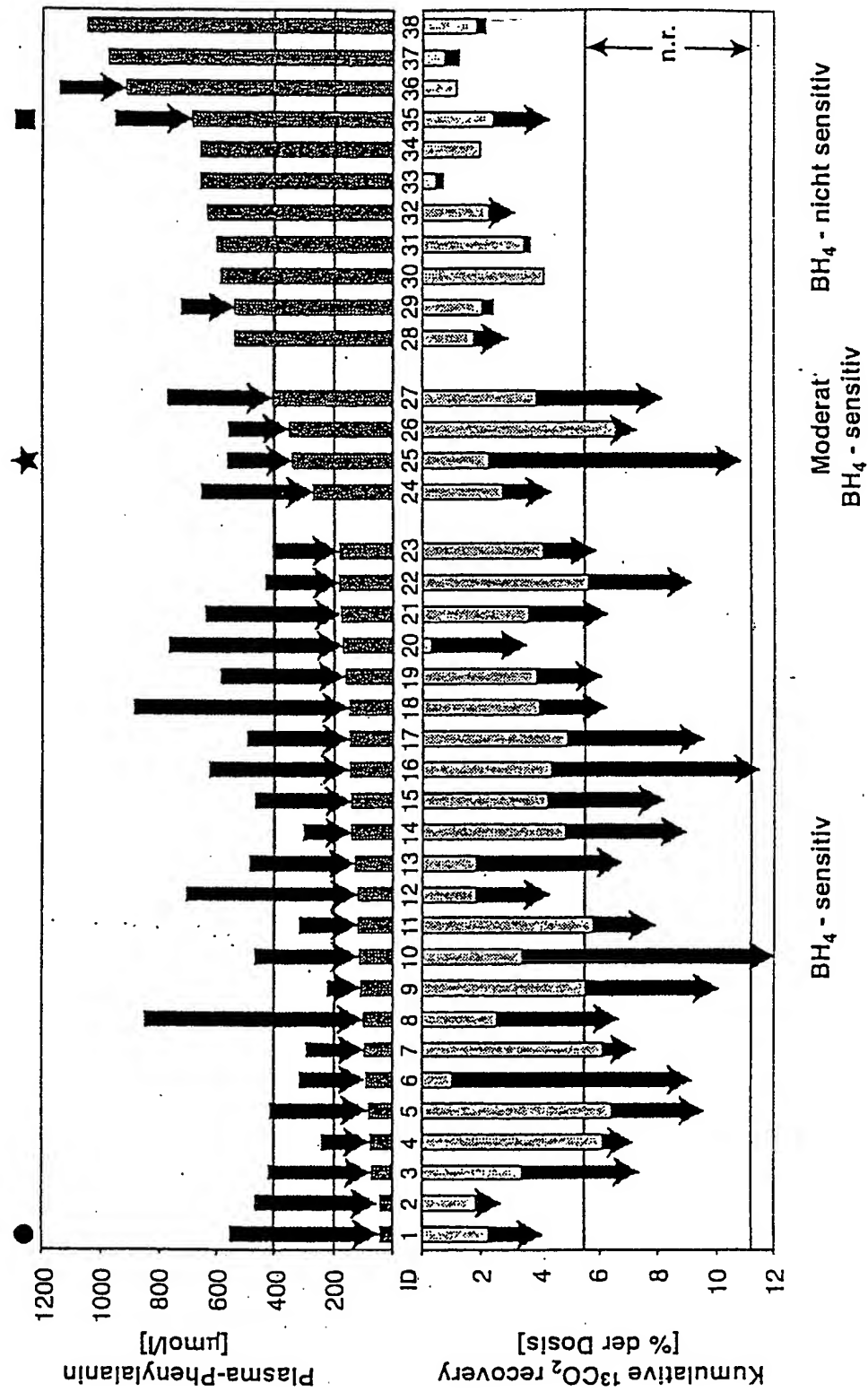


Fig. 4

5/5

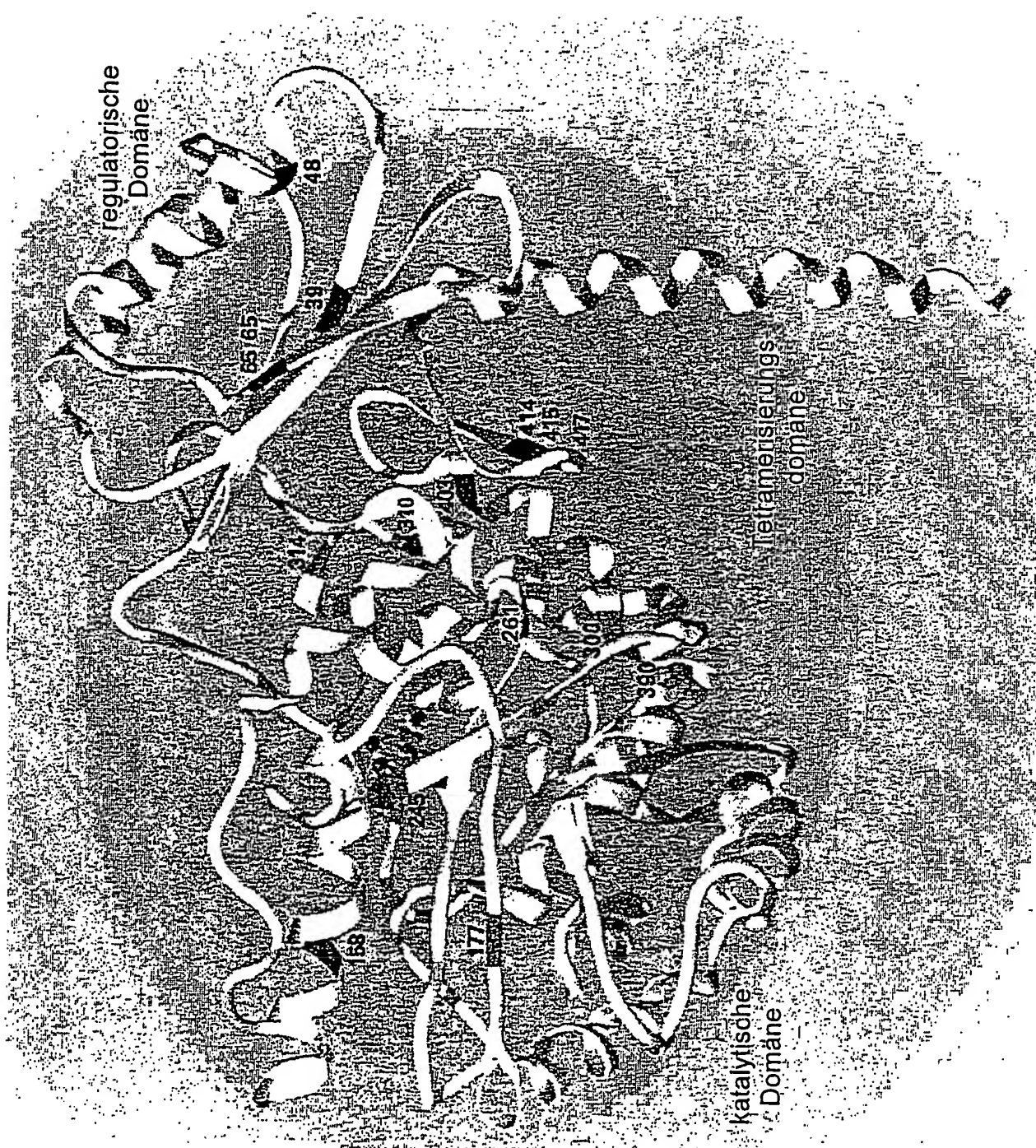


Fig. 5

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTVEREINS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



20 JUN 2005

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. Juli 2004 (15.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/058268 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/52, A61P 3/00, 3/02, A23L 1/30

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/014262

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. Dezember 2003 (15.12.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 60 263.8 20. Dezember 2002 (20.12.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BIOCRATES LIFE SCIENCES GMBH [AT/AT];
Innrain 66, A-6020 Innsbruck (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MUNTAU-HEGER,
Ania [DE/DE]; Kobellstrasse 2, 80336 München (DE).
ROSCHER, Adelbert, A. [AT/DE]; Westerholzstrasse
16, 81245 München (DE).

(74) Anwalt: WINTER BRANDL FÜRNISS HÜBNER
RÖSS KAISER POLTE - PARTNERSCHAFT; Patent-
und Rechtsanwaltskanzlei, Alois-Steinecker-Strasse 22,
85354 Freising (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO Patent (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 30. September 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF VON TETRAHYDROBIOPTERINE DERIVATIVES IN THE TREATMENT AND NUTRITION OF PA-
TIENTS WITH AMINO ACID METABOLIC DISORDERS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON TETRAHYDROBIOPTERINDERIVATEN ZUR BEHANDLUNG UND
ERNÄHRUNG VON PATIENTEN MIT AMINOSÄURESTOFFWECHSELSTÖRUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to the use of tetrahydrobiopterine and the derivatives thereof in the production of a medicament to improve protein tolerance for the treatment of diseases arising for an amino acid metabolic disorder, e.g. hyperphenylalanine-mia. The invention also relates to a composition which contains tetrahydrobiopterine or derivatives thereof in addition to a special mixture of amino acids. The invention can, for instance, be used as a food which is low in phenylalanine in the complete nutrition of hyperphenylalaninemic patients. Tests carried out within the context of said invention revealed that by treating patients who had phenylalanine concentrations of more than 200 µmol/l in their blood with tetrahydrobiopterine, it was possible to reduce the concentrations of phenylalanine by 37 % to 92 %.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Tetrahydrobiopterin und seinen Derivaten zur Herstellung eines Medikamentes zur Verbesserung der Proteintoleranz zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, z.B. der Hyperphenylalaninämie. Die Erfindung betrifft ferner eine Zusammensetzung, welche Tetrahydrobiopterin oder Derivate davon sowie eine spezielle Aminosäuremischung enthält. Diese kann beispielsweise als phenylalaninarmes Spezialnahrungsmittel zur vollständigen Ernährung von hyperphenylalaninämischen Patienten eingesetzt werden. Bei den Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Erfindung hat sich herausgestellt, dass durch Tetrahydrobiopterin-Behandlung von Patienten, die Phenylalaninkonzentrationen über 200 µmol/l im Blut aufwiesen sich deren Phenylalaninkonzentrationen um 37 bis 92 % reduzierten.

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/14262

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/52 A61P3/00 A61P3/02 A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>JAPANESE COLLABORATIVE STUDY GROUP OF TETRAHYDROBIOPTERIN-RESPONSIVE PHENYLALANINE HYDROXYLASE DEFIC: "A nation-wide study of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency in Japan" JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, vol. 24, no. Supplement 1, July 2001 (2001-07), page 28, XP008029344 39th Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism; Prague, Czech Republic; September 04-07, 2001 ISSN: 0141-8955 the whole document</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-12,44

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 April 2004

Date of mailing of the international search report

12. 08. 2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonzano, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/14262

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TANAKA Y ET AL: "On-off phenomenon in a child with tetrahydrobiopterin deficiency due to 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase deficiency (BH4 deficiency)" EUROPEAN JOURNAL OF PEDIATRICS 1989 GERMANY, vol. 148, no. 5, 1989, pages 450-452, XP008029347 ISSN: 0340-6199 page 452, column 2, paragraph 2 - paragraph 3	1-12,44
A	FURUKAWA, Y. ET AL: "Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia" NEUROLOGY (1999), 53(5), 1032-1041, XP008029137 page 1039, column 1, paragraph 2 page 1040, column 1, paragraph 2	1-12,44
X	MILLER, L. ET AL: "Role of hydroxylase cofactor in regulating dopamine synthesis: relevance to neurological disorders" DOPAMINERGIC SYST. THEIR REGUL., [PROC. SYMP.] (1986), MEETING DATE 1984, 471-3. EDITOR(S): WOODRUFF, GEOFFREY N.; POAT, J. A.; ROBERTS, PETER J. PUBLISHER: VCH, WEINHEIM, FED. REP. GER., XP008029132 abstract page 472, paragraph 2	1-12,44
X	DISSING I C ET AL: "TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE" ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, vol. 79, no. 6, 1989, pages 493-499, XP008029335 ISSN: 0001-6314 page 493, column 1, line 1 - column 2, line 14	1-13,44
X	US 4 778 794 A (HAYAISHI OSAMU ET AL) 18 October 1988 (1988-10-18) page 3, paragraph 4 - paragraph 6	1-18,24, 25
X	US 2002/052374 A1 (MOSER RUDOLF ET AL) 2 May 2002 (2002-05-02) example 10 claims 1,45,46	14-18
X	WO 95/13803 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 26 May 1995 (1995-05-26) page 14, paragraph 1 page 7, paragraph 3 page 32, paragraph 4	1-14,44
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 03/14262

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>HEITZER: "tetrahydrobiopterin improves..." DIABETOLOGIA, vol. 43, pages 1435-1438, XP001189711 -----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

EP03/14262

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplemental sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see supplemental sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-18, 20-25, 44 (partly)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

PCT/ISA/210

Continuation of Box I.2

Claims No. : -

Claims 1-13 and 44 for a second medical indication are not admissible under EPC Article 84. The therapeutic application is functionally defined by an action mechanism ("diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely conditions caused by the reduced cellular availability of catecholamines", "use as chaperone"), and this does not permit a practical use in the form of a defined, actual therapy of a pathological disorder (disease) (C-IV, 4.2).

This objection could be overcome either by including in the claims a list of the pathological disorders (diseases) mentioned in the application or by supplying proof that means are available to help a person skilled in the art to ascertain what further disorders are covered by the functional definition (C-III, 6.5).

In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure. The search was therefore directed to the parts of the claims that appear to be supported and disclosed in the above sense, namely the parts that relate to orthostatic hypotension and muscular dystonia.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-VI, 8.5) if the defects that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

Continuation of Box II

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims: 1-18, 20-25, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely conditions caused by the reduced cellular availability of catecholamines, in particular orthostatic hypotension (Shy-Drager syndrome) and muscular dystonia, and their pharmaceutical compositions.

2. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely neurotransmitter disorders, in particular schizophrenia

3. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely phenylketonuria

4. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely skin pigmentation disorders, in particular vitiligo

5. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely conditions caused by the reduced cellular availability of dopamine or serotonin resulting from tyrosine hydroxylase or tryptophan hydroxylase deficiency, in particular parkinsonism, depressive diseases, dystonic movement disorders

6. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely conditions with reduced NO synthase activity, such as endothelial dysfunction

7. Claims: 1-12, 44 (partially)

use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin for treating diseases which result from a disturbed amino acid metabolism, namely conditions with reduced NO synthase activity, such as reduced immunity to infection

8. Claims: 13-18, 20-25 (partially), 19, 26-42

foodstuff supplements which contain tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin, except for the above-mentioned pharmaceutical compositions

9. Claim: 43

diagnostic means for diagnosing tetrahydrobiopterin sensitivity

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern Application No

PCT/EP 03/14262

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4778794	A	18-10-1988	JP 1715473 C	27-11-1992
			JP 3080127 B	24-12-1991
			JP 61277618 A	08-12-1986
			AT 73331 T	15-03-1992
			DE 3684190 D1	16-04-1992
			EP 0209689 A2	28-01-1987
			US 4920122 A	24-04-1990

US 2002052374	A1	02-05-2002	US 2003216400 A1	20-11-2003

WO 9513803	A	26-05-1995	US 5877176 A	02-03-1999
			AU 1038595 A	06-06-1995
			CA 2176143 A1	26-05-1995
			EP 0729355 A1	04-09-1996
			JP 9505288 T	27-05-1997
			WO 9513803 A1	26-05-1995
			US 6153615 A	28-11-2000
			US 5880124 A	09-03-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14262

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/52 A61P3/00 A61P3/02 A23L1/30

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K A23L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>JAPANESE COLLABORATIVE STUDY GROUP OF TETRAHYDROBIOPTERIN-RESPONSIVE PHENYLALANINE HYDROXYLASE DEFIC: "A nation-wide study of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency in Japan"</p> <p>JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, Bd. 24, Nr. Supplement 1, Juli 2001 (2001-07), Seite 28, XP008029344</p> <p>39th Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism; Prague, Czech Republic; September 04-07, 2001</p> <p>ISSN: 0141-8955</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p> <p>-/--</p>	1-12, 44



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. April 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

12. 08. 2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bonzano, C

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TANAKA Y ET AL: "On-off phenomenon in a child with tetrahydrobiopterin deficiency due to 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase deficiency (BH4 deficiency)" EUROPEAN JOURNAL OF PEDIATRICS 1989 GERMANY, Bd. 148, Nr. 5, 1989, Seiten 450-452, XP008029347 ISSN: 0340-6199 Seite 452, Spalte 2, Absatz 2 - Absatz 3	1-12,44
A	FURUKAWA, Y. ET AL: "Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia" NEUROLOGY (1999), 53(5), 1032-1041, XP008029137 Seite 1039, Spalte 1, Absatz 2 Seite 1040, Spalte 1, Absatz 2	1-12,44
X	MILLER, L. ET AL: "Role of hydroxylase cofactor in regulating dopamine synthesis: relevance to neurological disorders" DOPAMINERGIC SYST. THEIR REGUL., [PROC. SYMP.] (1986), MEETING DATE 1984, 471-3. EDITOR(S): WOODRUFF, GEOFFREY N.; POAT, J. A.; ROBERTS, PETER J. PUBLISHER: VCH, WEINHEIM, FED. REP. GER., XP008029132 Zusammenfassung Seite 472, Absatz 2	1-12,44
X	DISSING I C ET AL: "TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE" ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, Bd. 79, Nr. 6, 1989, Seiten 493-499, XP008029335 ISSN: 0001-6314 Seite 493, Spalte 1, Zeile 1 - Spalte 2, Zeile 14	1-13,44
X	US 4 778 794 A (HAYAISHI OSAMU ET AL) 18. Oktober 1988 (1988-10-18) Seite 3, Absatz 4 - Absatz 6	1-18,24, 25
X	US 2002/052374 A1 (MOSER RUDOLF ET AL) 2. Mai 2002 (2002-05-02) Beispiel 10 Ansprüche 1,45,46	14-18
X	WO 95/13803 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 26. Mai 1995 (1995-05-26) Seite 14, Absatz 1 Seite 7, Absatz 3 Seite 32, Absatz 4	1-14,44
	-/--	

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	HEITZER: "tetrahydrobiopterin improves..." DIABETOLOGIA, Bd. 43, Seiten 1435-1438, XP001189711 -----	

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1-18, 20-25, 44 (teilweise)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld 1.2

Ansprüche Nr.: -

Die Ansprüche 1-13,44 für eine zweite medizinische Indikation sind nach Artikel 84 EPÜ nicht zulässig. Die therapeutische Anwendung wird funktionell durch einen Wirkmechanismus definiert ("Krankheiten, als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen", "Verwendung als Chaperon"), der keine praktische Anwendung in Form einer definierten, tatsächlichen Behandlung eines pathologischen Leidens (einer Krankheit) erlaubt (C-IV, 4.2).

Dieser Einwand könnte dadurch ausgeräumt werden, daß entweder eine Liste der in der Anmeldung genannten pathologischen Leiden (Krankheiten) in die Ansprüche aufgenommen wird oder der Nachweis erbracht wird, daß Hilfsmittel zur Verfügung stehen, anhand deren der Fachmann beurteilen könnte, welche weiteren Leiden durch die funktionelle Definition erfaßt werden (C-III, 6.5).

Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung.

Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als gestützt und offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend, die ortostatische Hypotension und musculäre Dystonie.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-18,20-25,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere ortostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom) und muskuläre Dystonie, und deren pharmazeutische Zusammensetzungen.

2. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie

3. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Phenylketonurie

4. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo.

5. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Dopamin oder Serotonin als Folge von Tyrosinhydroxylase oder Tryptophanhydroxylasemangel, insbesondere Parkinsonismus, depressive Erkrankungen, dystone Bewegungsstörungen

6. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität, nämlich endotheliale Dysfunktion

7. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise)

Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität, nämlich mangelnde Infektabwehr.

8. Ansprüche: 13-18,20-25 (partially), 19,26-42

Nahrungsergänzungsmitteln, welche Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin enthalten, ausschliesslich der obengenannten pharmazeutische Zusammensetzungen.

9. Anspruch: 43

Diagnostika zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-Sensivität

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/14262

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4778794 A	18-10-1988	JP 1715473 C	27-11-1992
		JP 3080127 B	24-12-1991
		JP 61277618 A	08-12-1986
		AT 73331 T	15-03-1992
		DE 3684190 D1	16-04-1992
		EP 0209689 A2	28-01-1987
		US 4920122 A	24-04-1990

US 2002052374 A1	02-05-2002	US 2003216400 A1	20-11-2003

WO 9513803 A	26-05-1995	US 5877176 A	02-03-1999
		AU 1038595 A	06-06-1995
		CA 2176143 A1	26-05-1995
		EP 0729355 A1	04-09-1996
		JP 9505288 T	27-05-1997
		WO 9513803 A1	26-05-1995
		US 6153615 A	28-11-2000
		US 5880124 A	09-03-1999

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENSARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 22 APR 2005

WIPO PCT

20 JUN 2005

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 85 BI6902	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/14262	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 15.12.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20.12.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K31/52		
Anmelder BIOCRATES LIFE SCIENCES GMBH et al		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.



2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 11 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 8 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 06.05.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 25.04.2005
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter Bonzano, C Tel. +31 70 340-2202 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-45 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-15 eingegangen am 04.04.2005 mit Schreiben vom 01.04.2005

Zeichnungen, Blätter

1/5-5/5 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☒ Ansprüche, Nr.: 16-44
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/14262

5. ☒ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

siehe Beiblatt

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung,
☒ Ansprüche Nr. 1-18,20-25,44 (teilweise)

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 1-18,20-25,44 (teilweise) wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
- ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
- ☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
- ☒ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/14262

2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.

3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3

☐ erfüllt ist.

☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:

siehe Beiblatt

4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

☐ alle Teile.

☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. 1-18,20-25,44 (teilweise) beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)

Ja: Ansprüche 3,5,24-25

Nein: Ansprüche 1-2,4,6-18,20-23,44

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja: Ansprüche -

Nein: Ansprüche 1-18,20-25,44

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja: Ansprüche 1-18,20-25,44 (teilweise)

Nein: Ansprüche: -

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Zu Punkt I

1. Der Gegenstand von Anspruch 1, als geändert, geht über den Inhalt der Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinaus (Regel 70(2)c PCT).

Es ist zu anmerken dass für Anspruch 1 in Bezug auf die Passage "ohne Mangel des Cofaktors Tetrahydrobiopterin" keine Basis in der Beschreibung besteht. Diese Passage ist im Context der Beschreibung der zubehandelten Krankheiten nicht ursprünglich offenbart. Die Anmeldung scheint keine Daten über die Plasmaspiegel an THB bei den behandelten Patienten zu enthalten. Informationen über den Plasma Gehalt an THB werden nur im Zuge einer Diskussion des Standes der Technik genannt.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass sich internationaler vorläufiger Prüfungsbericht nur auf Aspekte bezieht, die Gegenstand der internationalen Recherchenbericht sind (hier die beanspruchte Verbindungen zur Behandlung von ortostatischer Hypotension und muskulärer Dystonie).

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

2. Für Aspekte der Erfindung, die kein Gegenstand des Recherchenberichts sind, wird kein internationaler vorläufiger Prüfungsbericht erstellt.

Die Ansprüche 1-13, 44 für eine zweite medizinische Indikation sind nach Artikel 6 PCT nicht zulässig. Die therapeutische Anwendung wird funktionell durch einen Wirkmechanismus definiert ("Krankheiten, als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen", "Verwendung als Chaperon"), der keine praktische Anwendung in Form einer definierten, tatsächlichen Behandlung eines pathologischen Leidens (einer Krankheit) erlaubt.

Dieser Einwand könnte dadurch ausgeräumt werden, daß entweder eine Liste der in der Anmeldung genannten pathologischen Leiden (Krankheiten) in die Ansprüche aufgenommen wird oder der Nachweis erbracht wird, daß Hilfsmittel zur Verfügung stehen, anhand deren der Fachmann beurteilen könnte, welche weiteren Leiden durch die funktionelle Definition erfaßt werden.

Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung.

Zu Punkt IV

Nicht Einheitlichkeit

3.1 Die durch die gegenwärtige Anmeldung zu lösenden Aufgaben sind die folgenden:
Behandlung der Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels:

- 1) Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere ortostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom) und muskuläre Dystonie
- 2) Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie
- 3) Phenylketonurie,
- 4) Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo,
- 5) Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Dopamin oder Serotonin als Folge von Tyrosinhydroxylase oder Tryptophanhydroxylasemangel, insbesondere Parkinsonismus, depressive Erkrankungen, dystone Bewegungsstörungen
- 6) Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität, insbesondere:
 - 6a) endotheliale Dysfunktion
 - 6b) mangelnde Infektabwehr;

Bereitstellung von

- 7) Nahrungsergänzungsmitteln,
- 8) Diagnostika zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-Sensitivität

Die vorgeschlagene Lösung ist die Verwendung von Pteridinderivaten, insbesondere Tetrahydrobiopterin, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung obengenannter Krankheiten, oder zur Herstellung eines Nahrungsmittels oder eines Diagnostikums zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-Sensitivität.

Die Beanspruchte Verbindungen sind bekannt zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, welche als Krankheit gemäss Anspruch 1 genannt wird. Siehe z.B. D1:

DISSING I C ET AL: "TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE" ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, Bd. 79, Nr. 6, 1989, Seiten 493-499, XP008029335 ISSN: 0001-6314

In diesem Dokument wird Tetrahydrobiopterin beschrieben als nötig Medikament zur Behandlung von Zustände mit verringerter Phenylalaninhydroxylaseaktivität, die in Verbindung mit verminderter Verfügbarkeit von Dopamine, Serotonine, Norepinephrine und Epinephrine sind. Deshalb, wird Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Dystonie benutzt.

Pharmazeutische Zusammensetzungen werden offenbart.

Das oben zitierte Dokument erfasst weder den gesamten Gegenstand auf den die Ansprüche gerichtet sind, noch den Gegenstand einer der definierten Erfindungen und ist lediglich als Teil des Standes der Technik zu betrachten der sich auf die erfinderische Idee der vorliegenden Anmeldung bezieht.

Die Idee, Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von den obengenannten Krankheiten zu verwenden ist schon offenbart und kann daher nicht als einzige allgemeine erfinderische Idee im Sinne von R. 13.1 PCT dienen, die den technischen Zusammenhang zwischen den beanspruchten Erfindungen 1-8 darstellt.

Dokument "Tetrahydrobiopterin improves..." (Diabetologia 2000, 43: 1435-1438), von Heitzer und Krohn, das im Recherchenbericht steht, offenbart die Aktivität von Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Zustände die mit verminderter NO-Synthaseaktivität verbunden sind. Tetrahydrobiopterin steigert NO Synthese, deshalb erlaubt die Verbesserung von Zustände, die von verminderten NO Synthese verursacht werden.

Die Idee, Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität zu verwenden ist schon offenbart und kann daher nicht als einzige allgemeine erfinderische Idee im Sinne von Regel 13 PCT dienen, die den technischen Zusammenhang zwischen den beanspruchten Erfindungen 6a und 6b darstellt.

3.2 Die Anmelderin wird darauf hingewiesen, dass der technische Effekt (die Vorbeugung oder Behandlung der betreffenden Krankheiten) nicht dadurch geändert wird, dass ein neuer oder alternativer Wirkungsmechanismus und Angriffsort vorgeschlagen wird. Die Entdeckung eines solchen neuen oder alternativen Wirkungsmechanismus kann nicht als eine Erfindung im Sinne des EPC angesehen werden, weil kein neues therapeutisches Fenster geöffnet wird. Die beanspruchten Erfindungen stellen rein alternative Lösungen dar, die jeweils gekennzeichnet sind durch ihre eigenen besonderen technischen Merkmale (die strukturellen Merkmale der zu verwendenden Verbindungen): es gibt in der vorliegenden Anmeldung kein weiteres technisches Merkmal, das als "besonderes technisches Merkmal" einen technischen Zusammenhang zwischen den Erfindungen bestimmt. Das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach R. 13.1 PCT ist daher nicht erfüllt.

3.3 Daher sind nach Ansicht der Prüfungsabteilung die folgenden verschiedenen Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden:

1. Ansprüche: 1-18,20-25,44 (teilweise), Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Katecholaminen, insbesondere ortostatische Hypotension (Shy-Drager Syndrom) und muskuläre Dystonie, und deren pharmazeutische Zusammensetzungen.

2. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Neurotransmitterstörungen, insbesondere Schizophrenie

3. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Phenylketonurie

4. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Pigmentstörungen der Haut, insbesondere Vitiligo.

5. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände bedingt durch verminderte zelluläre Verfügbarkeit von Dopamin oder Serotonin als Folge von Tyrosinhydroxylaseoder Tryptophanhydroxylasemangel, insbesondere Parkinsonismus, depressive Erkrankungen, dystone Bewegungsstörungen

6. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich Zustände mit verminderter NO-Synthaseaktivität, insbesondere endotheliale Dysfunktion

7. Ansprüche: 1-12,44 (teilweise) Verwendung von Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Erkrankungen als Folge eines gestörten Aminosäurestoffwechsels, nämlich mangelnde Infektabwehr.

8. Ansprüche: 13-18,20-25 (teilweise), 19,26-42 Zusammensetzungen, Nahrungsergänzungsmitteln, welche Tetrahydrobiopterin Derivaten oder Tetrahydrobiopterin enthalten, und deren Verwendung.

9. Anspruch : 43 Diagnostika zur Diagnose von Tetrahydrobiopterin-Sensivität

Der Anmelder hat probiert sich auf die Krankheit der Erfindung 3 zu schränken, welche nicht recherchiert wurde. Der internationaler vorläufiger Prüfungsbericht wurde auf die erste Erfindung (Ansprüche 1-18,20-25,44) beschränkt.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

4. In diesem Bericht werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt, die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten (zitierte Stellen bitte dem Recherchenbericht entnehmen):

- D1: DISSING I C ET AL: 'TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE' ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, Bd. 79, Nr. 6, 1989, Seiten 493-499, XP008029335 ISSN: 0001-6314
- D2: WO 95 13803 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 26. Mai 1995 (1995-05-26)
- D3: FURUKAWA, Y. ET AL: 'Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia' NEUROLOGY (1999), 53(5), 1032-1041 , XP008029137
- D4: MILLER, L. ET AL: 'Role of hydroxylase cofactor in regulating dopamine synthesis: relevance to neurological disorders' DOPAMINERGIC SYST. THEIR REGUL., [PROC. SYMP.] (1986), MEETING DATE 1984, 471-3. EDITOR(S): WOODRUFF, GEOFFREY N.; POAT, J. A.; ROBERTS, PETER J. PUBLISHER: VCH, WEINHEIM, FED. REP. GER. , XP008029132

5. Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass sich internationaler vorläufiger Prüfungsbericht nur auf Aspekte bezieht, die Gegenstand der internationalen Recherchenbericht sind (hier die beanspruchte Verbindungen zur Behandlung von orthostatischer Hypotension und muskulärer Dystonie).

Neuheit

6.1 D3 offenbart die Aktivität von L-Dopa und Tetrahydrobiopterin gegen Dopa responsive Dystonie. D4 beschreibt die Verabreichung von Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Dystonie. Dystonie fällt unter der Definition der Krankheit von Erfindung I (musculäre Dystonie), und wird in D3 und D4 mit Tetrahydrobiopterin behandelt.

Der Gegenstand der Ansprüche 1-2,4,6-12,44 ist gemäss D3, D4 nicht neu (Artikel 33(2) PCT).

6.2 D1 offenbart eine Bindung zwischen verminderter Tetrahydrobiopterin und verminderter Phenylalanine Konversion (Phenylketonuria): Tetrahydrobiopterin wird empfohlen zur Behandlung von Zustände mit unzureichenden Dopamine, Serotonin, Noradrenaline und Adrenaline. Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Ansprüche 13-18, 20-25 in Form einer ersten medizinischen Anwendung formuliert wurden, i.e. die Ansprüche beziehen sich auf die pharmazeutische Verbindung als solche. Die Anwendung zur Behandlung einer spezifischen Erkrankung/Störung spielt aufgrund des Wortlautes (erste medizinischen Anwendung) keine Rolle bei der Bewertung der Neuheit des Anspruchs.

Der Gegenstand der Ansprüche 13-18,20-23 ist gemäss D1 nicht neu (Artikel 33(2) PCT).

Erfinderische Tätigkeit

7.1 Das Vorhandensein einer erfinderischen Tätigkeit der Ansprüche 1-2,4,6-18,20-23,44, insofern neu, und 3,5,24,25 im Vergleich zum existierenden Stand der Technik muss nachgewiesen werden.

7.2 D2 offenbart die Behandlung von systemischer Hypotension mit Inhibitoren der Tetrahydrobiopterinsynthese, wie Pterin Derivaten und andere Verbindungen.

Der Gegenstand der Ansprüche 1-18,20-25,44 unterscheidet sich von D2 dadurch, dass die Verbindungen andere Pterinderivate sind.

Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann, im Vergleich zum zitierten Dokument D2, somit darin gesehen werden, alternative Verbindungen zur Behandlung der obengenannten Krankheiten vorzuschlagen.

D3 offenbart die Aktivität von Tetrahydrobiopterin gegen Dopa responsive Dystonie. D4 beschreibt die Verabreichung von Tetrahydrobiopterin zur Behandlung von Dystonie.

Es würde für den Fachmann offensichtlich sein, auch ähnliche Verbindungen, welche Pterinderivaten sind, zur Behandlung dieser Krankheiten heranzuziehen.

Der Gegenstand der Ansprüche 1-2,4,6-18,24,25,44, insofern neu, und 3,5,20-23 ist daher

nicht erfinderisch (Artikel 33(3) PCT).

7.3 Ausserdem, würde es für den Fachmann offensichtlich sein, auch dieselbe Verbindung, Tetrahydrobiopterin, schon bekannt gegen die beanspruchten Krankheiten, zusammen mit anderen Verbindungen, wie Aminosäure oder Vitaminen, die nützlich für den gleichen Patient sind, zu verabreichen.

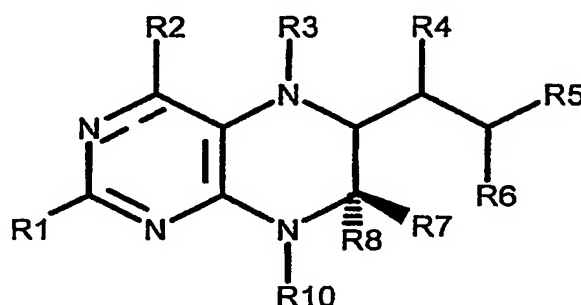
Die Verwendung einer Kombination von zwei oder mehr Aktivstoffen gleicher, bereits bekannter Wirkung ist nur dann als erfinderisch anzusehen, wenn dabei überraschende Effekte nachgewiesen werden. Synergismus könnte als Nachweis erfinderischer Tätigkeit dienen.

Lediglich additive Effekte können nicht als Nachweis einer erfinderischen Tätigkeit dienen. In diesem Zusammenhang fehlt die vorliegende Anmeldung Daten, welche eine erfinderische Tätigkeit glaubhaft machen.

Der Gegenstand der Ansprüche 1,2,4,6-18,24,25,44, insofern neu, und 3,5,20-23 ist daher nicht erfinderisch (Artikel 33(3) PCT).

Ansprüche

- 5 1. Verwendung wenigstens einer Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



10

worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;

15

worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;

worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;

20

worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;

25

worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;

worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist; worin R₁₀ ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie

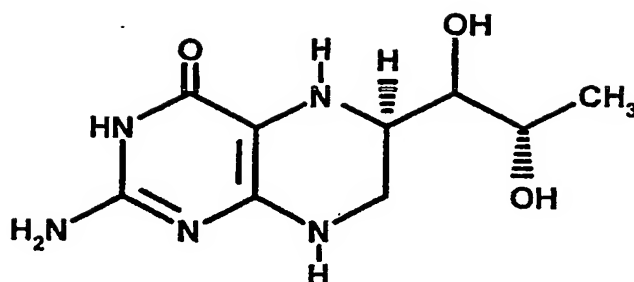
deren pharmazeutisch akzeptablen Salze;

zur Herstellung eines Medikamentes zur Langzeitbehandlung von Zuständen mit verminderter Proteintoleranz infolge eingeschränkter Phenylalaninoxidation ohne Mangel des Kofaktors Tetrahydrobiopterin, bedingt durch Mutationen im Phenylalaninhydroxylase-Gen;

wobei diese Mutationen folgende Allelpaarungen betreffen:

A403V + IVS4+5G>T, P314S + R408W, F39L + D415N, Y414C + D415N, Y417H + Y417H, F55L + S310Y, V177M + R408W, P275L + Y414C, V245A + R408W, L48S + R158Q, Y417H + Y417H, V245A + R408W, R261X + A300S, R158Q + E390G, Y414C + IVS12+1G>A, I65S + A300S, H170O + A300S, R261Q + Y414C, K274fsdel11bp + E390G, IVS4-5C>G + R408W, I65T + Y414C, E390G + IVS12+1G>A, I65V + R261Q, R158Q + Y414C.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, Sapropterin, insbesondere dessen Hydrochlorid oder Sulfat, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



5 (-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-
4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid; und/oder

2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder

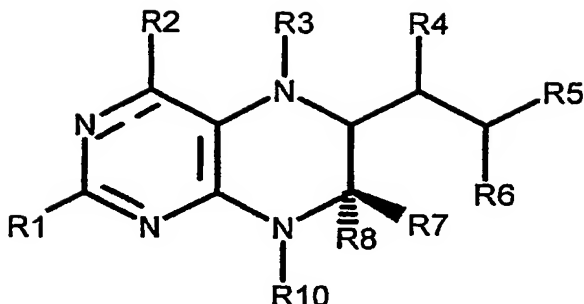
10 2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

15 3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch
gekennzeichnet, dass man als pharmazeutisch akzeptables
Salz ein Hydrochlorid oder ein Sulfat einsetzt.

20 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch
gekennzeichnet, dass die Zustände mit verminderter
Proteintoleranz umfassen: Zustände mit erhöhtem
Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin in
Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere auch
klassische Phenylketonurie, milde Phenylketonurie oder milde
Hyperphenylalaninämie.

25

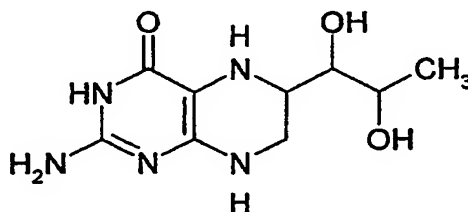
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung die Funktion eines Chaperons zur Verbesserung der Proteinmißfaltung, insbesondere bei Strukturanomalien in Enzymen, die Tetrahydrobiopterin als Cofaktor benötigen, aufweist.
6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Enzyme ausgewählt werden aus: Phenylalaninhydroxylase, Tyrosinhydroxylase, Tryptophanhydroxylase, oder NO-Synthase.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung die Funktion eines Chaperons als Neurotransmitter- und/oder Botenstoff-Enhancer aufweist, insbesondere bei Zuständen mit erhöhtem Phenylalanin oder vermindertem Tyrosin, Serotonin oder Dopamin in Körperflüssigkeiten, Geweben oder Zellen, insbesondere bei Zuständen mit verringerter Phenylalaninhydroxylase-, Tyrosinhydroxylase-Tryptophanhydroxylase- und NO-Synthaseaktivität.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung als Neurotransmitter oder als Botenstoff-Enhancer, insbesondere für Catecholamine und/oder Serotonin und/oder Dopamin und oder Stickoxid(NO), wirkt.
9. Zusammensetzung enthaltend wenigstens eine Verbindung mit folgender allgemeiner Formel:



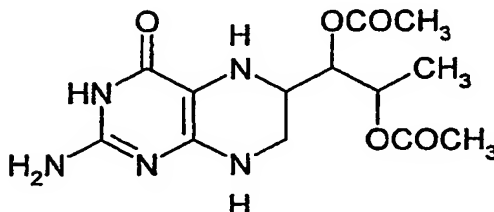
- 5 worin R1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, F, Cl, Br, I, NH₂, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, N(C₃H₇)₂; NH-Acyl, wobei der Acylrest 1 bis 32 Kohlenstoffatome enthält, insbesondere CH₃O, bevorzugt 9 bis 32, vorzugsweise 9 bis 20 Kohlenstoffatome, enthält;
- 10 worin R2 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, O, S;
- 15 worin R3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅;
- 20 worin R4 und R6 unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, Acetyl, OX, wobei X ein C1 bis C32 Acylrest, insbesondere ein C9 bis C32 Acylrest, bevorzugt ein C9 bis C20 Acylrest, ist;
- 25 worin R5 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Phenyl, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl, Isobutyl, t-Butyl;
- 30 worin R7 und R8 unabhängig voneinander ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, OH, SH, NH₂, F, Cl, Br, I, CH₃, COOH, CHO, COOR₉, wobei R₉ CH₃, C₂H₅, C₃H₇, Butyl ist;
- 35 worin R10 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: H, CH₃, C₂H₅, und - - eine optionale Doppelbindung darstellt; sowie
- 40 deren pharmazeutisch akzeptablen Salze; sowie

wenigstens eine Aminosäure enthaltend, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus den essentiellen Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin; sowie aus den nicht essentiellen Aminosäuren, insbesondere Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin;

wobei folgende Verbindungen ausgenommen sind:



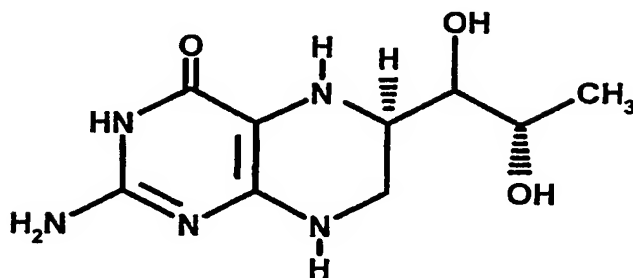
und



wenn die Aminosäure Tryptophan, Cystein, insbesondere Acetylcystein, sowie Tyrosin ist.

10. Zusammensetzung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die essentiellen Aminosäuren, ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin und sie zusätzlich wenigstens eine der Aminosäuren Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, insbesondere Acetylcystein, Glutaminsäure, Glutamin, Glycin, Prolin, Serin sowie Tyrosin enthält.
11. Zusammensetzung nach Anspruch 9 und 10, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Kohlehydrate, insbesondere Glucose, und/oder Vitamine enthält.
12. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass sie als oral oder intravenös zu verabreichendes Präparat formuliert ist.
13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Präparat als Pulver, Tablette, Kapsel, Dragee, in Tropfenform oder als Lösung zur intravenösen Anwendung, formuliert ist.
14. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 9 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie als eine pharmazeutische Zusammensetzung, gegebenenfalls mit pharmazeutisch-galenisch üblichen Hilfsstoffen, ausgebildet ist.
15. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus: Sapropterin, insbesondere

dessen Hydrochlorid, sowie einer Verbindung mit folgender Struktur:



5

(-)-(1'R,2'S,6R)-2-Amino-6-(1',2'-dihydroxypropyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-pteridinon,

insbesondere dessen Dihydrochlorid oder Sulfat und/oder

10 2-N-Stearoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Decanoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Palmitoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin; und/oder
2-N-Linoleoyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2003/014262



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

20 JUN 2005

Applicant's or agent's file reference 85 BI6902	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/014262	International filing date (day/month/year) 15 December 2003 (15.12.2003)	Priority date (day/month/year) 20 December 2002 (20.12.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/52		
Applicant ORPHANETICS PHARMA ENTWICKLUNGS GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 11 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 8 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 06 May 2004 (06.05.2004)	Date of completion of this report 25 April 2005 (25.04.2005)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/014262

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-45, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages 1-15, filed with the letter of 04 April 2005 (04.04.2005)
- ☒ the drawings:
 pages 1/5-5/5, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☒ the claims, Nos. 16-44
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☒ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/014262

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☐ claims Nos. _____

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-18, 20-25, 44(in part)

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/014262

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☒ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See attached sheets

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☐ all parts.
- ☒ the parts relating to claims Nos. 1-18, 20-25, 44 (in part)

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

1. The subject matter of claim 1, as amended, goes beyond the disclosure in the application as originally filed (PCT Rule 70.2(c)).

It should be noted that the passage in claim 1 "without a deficiency of the cofactor tetrahydrobiopterin" has no basis in the description. This passage was not originally disclosed in the context of the description of diseases to be treated. The application does not appear to contain data on plasma THB in treated patients. Information on plasma THB is given only in the course of a discussion of the prior art.

The attention of the applicant is drawn to the fact that an international preliminary examination report relates only to aspects that form the subject matter of the international search report (here: the claimed compounds for treating orthostatic hypotension and muscular dystonia).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/14262

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. An international preliminary examination report has not been established for those aspects of the invention that do not form the subject of the search report.

Claims 1-13 and 44 for a second medical indication are not allowable according to PCT Article 6. The therapeutic use is defined functionally by a mechanism of action ("diseases due to disturbed amino acid metabolism, namely states produced by reduced cellular availability of catecholamines", "use as a chaperon"), which does not permit a practical application in the form of a specific, concrete treatment of a pathological state (disease).

This objection could be eliminated either by incorporating in the claims a list of the pathological states (diseases) shown in the application or by demonstrating the availability of aids that would enable a person skilled in the art to evaluate further states that may be embraced by the functional definition.

In the present case the claims lack corresponding support or the application lacks the requisite disclosure.

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

Lack of unity of the invention

- 1.1 The problems addressed by the present application are as follows:

Treatment of diseases due to disturbed amino acid metabolism:

1. states produced by reduced cellular availability of catecholamines, in particular orthostatic hypotension (Shy-Drager syndrome) and muscular dystonia,
2. neurotransmitter disturbances, in particular schizophrenia,
3. phenylketonuria,
4. pigment disturbances of the skin, in particular vitiligo,
5. states produced by reduced cellular availability of dopamine or serotonin due to tyrosine hydroxylase or tryptophan hydroxylase deficiency, in particular parkinsonism, depressive illnesses and dystonic mobility disturbances,
6. states characterized by reduced NO synthase activity, in particular:
 - 6a) endothelial dysfunction
 - 6b) immunodeficiency.

Provision of:

1. Dietary supplements
2. Diagnostic means for diagnosing

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Publication No.
PCT/EP 03/14262

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

tetrahydrobiopterin sensitivity.

The solution proposed consists in the use of pteridine derivatives, in particular tetrahydrobiopterin, to produce a drug for treating the above-indicated diseases or to produce a food or a diagnostic means for diagnosing tetrahydrobiopterin sensitivity

Use of the claimed compounds is known in the treatment of diseases due to disturbed amino acid metabolism, which is shown as a disease in claim 1. See, for example, D1:

DISSING I C ET AL: "TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE" ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, vol. 79, no. 6, 1989, pages 493-499, XP008029335
ISSN: 0001-6314

In D1 tetrahydrobiopterin is described as a necessary drug for the treatment of depressed phenylalanine hydroxylase activity states in conjunction with reduced dopamine, serotonin, norepinephrine and epinephrine availability. Therefore, tetrahydrobiopterin is used to treat dystonia. Pharmaceutical compositions are disclosed.

D1 neither comprises the entire subject matter at which the claims are directed nor the subject matter of a defined invention and should be

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/14262**Supplemental Box**
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

considered only as a part of the prior art which relates to the inventive concept of the present application.

The concept of using tetrahydrobiopterin to treat the above-indicated diseases has been disclosed and cannot, therefore, form a single general inventive concept (within the meaning of PCT Rule 13.1) that constitutes the technical relationship among the claimed inventions 1-8.

The document "Tetrahydrobiopterin improves..." (Diabetologia 2000, 43: 1435-1438) by Heitzer & Krohn (mentioned in the search report) discloses tetrahydrobiopterin activity in the treatment of states associated with depressed NO synthase activity. Tetrahydrobiopterin increases NO synthase activity and therefore enables states associated with depressed NO synthase activity to be improved.

The concept of using tetrahydrobiopterin to treat states associated with depressed NO synthase activity has been disclosed and cannot, therefore, form a single general inventive concept (within the meaning of PCT Rule 13.1) that constitutes the technical relationship among the claimed inventions 6a and 6b.

- 1.2 The applicant's attention is drawn to the fact that the technical effect (prevention or treatment of the diseases in question) is not changed by the

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

proposal of a novel or alternative mechanism and site of action. The discovery of such a novel or alternative mechanism of action cannot be considered an invention within the meaning of the EPC because a novel therapeutic window is not opened. The claimed inventions represent purely alternative solutions, each characterized by its own special technical features (the structural features of the compounds used), and the present application contains no further technical feature that, as a "special technical feature", defines a technical relationship among the inventions. Therefore, the requirement for unity of invention according to PCT Rule 13.1 is not met.

1.3 Therefore, in the opinion of the examination department the following different inventions or groups of inventions are not linked by a single general inventive concept:

1. Claims 1-18, 20-25, 44 (partially): Use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases due to disturbed amino acid metabolism, specifically states produced by reduced cellular availability of catecholamines, in particular orthostatic hypotension (Shy-Drager syndrome) and muscular dystonia, and pharmaceutical compositions thereof.

2. Claims 1-12, 44 (partially): Use of

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

tetrahydrobiopterin derivatives or
tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases
due to disturbed amino acid metabolism,
specifically neurotransmitter disturbances, in
particular schizophrenia.

3. Claims 1-12, 44 (partially): Use of
tetrahydrobiopterin derivatives or
tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases
due to disturbed amino acid metabolism,
specifically phenylketonuria.

4. Claims 1-12, 44 (partially): Use of
tetrahydrobiopterin derivatives or
tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases
due to disturbed amino acid metabolism,
specifically pigment disturbances of the skin, in
particular vitiligo.

5. Claims 1-12, 44 (partially): Use of
tetrahydrobiopterin derivatives or
tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases
due to disturbed amino acid metabolism,
specifically states produced by reduced cellular
availability of dopamine or serotonin due to
tyrosine hydroxylase or tryptophan hydroxylase
deficiency, in particular parkinsonism,
depressive illnesses and dystonic mobility
disturbances.

6. Claims 1-12, 44 (partially): Use of

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases due to disturbed amino acid metabolism, specifically states characterized by reduced NO synthase activity, in particular endothelial dysfunction.

7. Claims 1-12, 44 (partially): Use of tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin in the treatment of diseases due to disturbed amino acid metabolism, specifically immunodeficiency.
8. Claims 13-18, 20-25 (partially), 19, 26-42: Compositions and dietary supplements comprising tetrahydrobiopterin derivatives or tetrahydrobiopterin and the use thereof.
9. Claim 43: Diagnostic means for diagnosing tetrahydrobiopterin sensitivity.

The applicant has tried to restrict himself to the disease indicated in invention 3, which was not searched. The international preliminary examination report has been limited to the first invention (claims 1-18, 20-25, 44).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/14262

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	3, 5, 24-25	YES
	Claims	1-2, 4, 6-18, 20-23, 44	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-18, 20-25, 44	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-18, 20-25, 44 (partially)	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

- This report makes reference to the following documents, which were cited in the search report; the same numbering will be used throughout the procedure (please see the search report for the cited passages):

D1: DISSING I C ET AL: 'TETRAHYDROBIOPTERIN AND PARKINSON'S DISEASE' ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA, vol. 79, no. 6, 1989, pages 493-499, XP008029335 ISSN: 0001-6314

D2: WO 95 13803 A (CORNELL RES FOUNDATION INC) 26 May 1995 (1995-05-26)

D3: FURUKAWA, Y. ET AL: 'Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia' NEUROLOGY (1999), 53(5), 1032-1041, XP008029137

D4: MILLER, L. ET AL: 'Role of hydroxylase cofactor in regulating dopamine synthesis: relevance to neurological disorders' DOPAMINERGIC SYST. THEIR REGUL., [PROC. SYMP.] (1986), MEETING DATE 1984, 471-3. EDITOR(S): WOODRUFF, GEOFFREY N.; POAT, J. A.; ROBERTS, PETER J. PUBLISHER: VCH, WEINHEIM, FED. REP. GER., XP008029132

2. The attention of the applicant is drawn to the fact that an international preliminary examination report relates only to aspects that form the subject matter of the international search report (here: the claimed compounds for treating orthostatic hypotension and muscular dystonia).

Novelty

- 3.1 D3 discloses the activity of L-dopa and tetrahydrobiopterin in the treatment of dopa-responsive dystonia. D4 describes the administration of tetrahydrobiopterin to treat dystonia. Dystonia falls within the class of diseases defined in claim 1 (muscular dystonia) and is treated with tetrahydrobiopterin in D3 and D4.

The subject matter of claims 1-2, 4, 6-12 and 44 is not novel (PCT Article 33(2)) in view of D3 and D4.

- 3.2 D1 discloses a connection between reduced tetrahydrobiopterin and depressed phenylalanine conversion (phenylketonuria). Tetrahydrobiopterin is recommended for the treatment of states involving dopamine, serotonin, norepinephrine and epinephrine deficiency. The attention of the applicant is drawn to the fact that claims 13-18 and 20-25 have been worded in the form of a first medical application: that is, the claims relate to the pharmaceutical compound *per se*. Owing to the wording (first medical application), use in the treatment of a specific disease/disturbance is irrelevant to evaluating the novelty of the claim.

The subject matter of claims 13-18 and 20-23 is not

novel (PCT Article 33(2)) in view of D1.

Inventive step

4.1 The presence of inventive step in claims 1-2, 4, 6-18, 20-23 and 44, if novel, and claims 3, 5, 24 and 25 compared with the available prior art must be established.

4.2 D2 discloses the treatment of systemic hypotension with such tetrahydrobiopterin synthesis antagonists as pterin derivatives and other compounds.

The subject matter of claims 1-18, 20-25 and 44 differs from D2 in that the compounds are other pterin derivatives.

Compared with D2, the problem addressed by the present invention may therefore be considered that of proposing alternative compounds for the treatment of the above-indicated diseases.

D3 describes the activity of tetrahydrobiopterin in the treatment of dopa-responsive dystonia. D4 describes the administration of tetrahydrobiopterin to treat dystonia.

Use of similar compounds that are pterin derivatives to treat these diseases would be evident to a person skilled in the art.

The subject matter of claims 1-2, 4, 6-18, 24, 25 and 44, if novel, and claims 3, 5 and 20-23 therefore lacks inventive step (PCT Article 33(3)).

4.3 Moreover, administration of the same compound - tetrahydrobiopterin - which is known to be effective in treating the claimed diseases, in conjunction with other compounds, such as amino acids or vitamins, which are beneficial to the same patient, would be evident to a person skilled in the art.

The use of a combination of two or more active substances having the same, known activity can be considered to involve an inventive step only if a surprising effect can be demonstrated. Synergy could demonstrate inventive step

Additive effects alone cannot constitute proof of inventive step. The present application lacks relevant data that would make inventive step credible.

The subject matter of claims 1-2, 4, 6-18, 24, 25 and 44, if novel, and claims 3, 5 and 20-23 therefore lacks inventive step (PCT Article 33(3)).

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.